

ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ СТАРЕНИЕ ЧЕЛОВЕКА ФОРМОЙ ФЕНОПТОЗА?

Обзор

© 2022 G. Libertini^{1,2*}, G. Corbi^{3,4}, O. Shubernetskaya⁵, and N. Ferrara^{2,6}

¹ Italian Society for Evolutionary Biology (SIBE), 14100 Asti, Italy; Email: giacinto.libertini@yahoo.com

² Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy

³ Department of Medicine u Health Sciences, University of Molise, 86100 Campobasso, Italy

⁴ Italian Society of Gerontology u Geriatrics (SIGG), 50129 Firenze, Italy

⁵ Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 117997 Moscow, Russia

⁶ Istituti Clinici Scientifici Maugeri SPA – Società Benefit, IRCCS, 82037 Telesse Terme (BN), Italy

Поступила в редакцию 02.08.2022

После доработки 28.08.2022

Принята к публикации 29.08.2022

Суть этой активно обсуждаемой научной проблемы заключается в том, является ли старение следствием накопления дегенеративных факторов, недостаточно противостоящих естественному отбору, или же, напротив, оно является упорядоченным процессом, генетически предопределённым и регулируемым, моделируемым естественным отбором, для которого было вполне уместно использовать определение фенототического явления. В настоящем обзоре приведены теоретические аргументы и эмпирические данные в пользу обеих гипотез с дополнительными доказательствами в поддержку тезиса о старении как форме фенотоза. Поскольку тезис о старении как адаптивном запрограммированном явлении должен быть подкреплён существованием специфических механизмов, определяющих старение, таких как предложенная для этой цели субтеломерно-теломерная теория, приводятся доказательства, подтверждающие механизмы, описываемые этой теорией. В частности, в статье подчёркивается, что недавно появившаяся интерпретация роли последовательностей TERRA в рамках субтеломерно-теломерной теории является ключевым моментом в поддержку гипотетических механизмов. Кроме того, отдельные характеристики механизмов, предложенных в рамках данной теории, такие как наблюдаемые при старении эпигенетические модификации, постепенное старение клеток, клеточное старение, ограничения дупликации клеток и фиксированный размер теломерного гетерохроматинового капюшона, подробно рассмотрены на предмет их совместимости как с положением о старении как фенототическом явлении, так и с противоположными точками зрения. Короче говоря, старение как форма фенотоза представляется научно обоснованной гипотезой, в то время как противоположный тезис должен прояснить значение различных явлений, которые, по-видимому, опровергают его.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фенотоз, старение, субтеломеры, теломеры, субтеломерно-теломерная теория, постепенное клеточное старение, клеточное старение, эпигенетические изменения.

DOI: 10.31857/S0320972522120041, **EDN:** NFXQXK

ВВЕДЕНИЕ

Прошло 25 лет с тех пор, как был определён и предложен неологизм и концепция фенотоза как «запрограммированной смерти организма» [1, 2]. Впоследствии: (1) старение, проявляющееся у особей нашего и многих дру-

гих видов, точно описанное как «увеличение смертности с увеличением хронологического возраста в популяциях в дикой природе» [3], было указано как форма «медленного фенотоза» [4]; (2) было расширено определение фенотоза: «Фенотоз – это смерть особи, вызванная её собственными действиями или

Принятые сокращения: Т-последовательности – РНК, содержащие теломерные повторы (TERRA); ERC – внехромосомные рибосомные кольца ДНК; ES – эмбриональные стволовые клетки; iPSC – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; CGI – CpG-островки; MSC – мезенхимные стволовые клетки; SASP – секреторный фенотип, ассоциированный со старением; SC – стволовые клетки.

* Адресат для корреспонденции.

действиями близких родственников (сублицид; в частности, гибель потомства в результате действий родителей или сыновнее детоубийство) и не вызванная несчастными случаями, болезнями или внешними факторами, т.е. определяется, регулируется или находится под влиянием генов, одобренных естественным отбором» [5]; и (3) было подчеркнуто, насколько этот тип явления широко распространён в природе [5, 6].

Концепция фенотипа позволяет охватить одним понятием ряд очень разнородных явлений, при которых у огромного числа видов особь умирает или подвергает себя риску умереть в чётко определённых фазах жизненного цикла или в определённых случаях [5, 7].

Для фенотипических явлений характерны два общих признака.

- Естественный отбор строго на уровне одного индивида не может объяснить тот факт, почему гены благоприятствуют характеристикам, из-за которых особь погибает или же снижаются её шансы на выживание. Следовательно, любой тип фенотипа должен определяться естественным отбором, действующим на надиндивидуальном уровне.

- Фенотипические явления должны быть вызваны особыми механизмами, определяемыми и регулируемые специфическими генами, существование которых допускается вышеупомянутыми надиндивидуальными селективными механизмами отбора.

Понятие фенотипа возникает в противовес идеям Дарвина, если ограничиться выражением «выживание наиболее приспособленных», которое содержится в названии пятого издания его книги [8]. Без дальнейших пояснений исключается возможность того, что естественный отбор может благоприятствовать чему-либо, что убивает или наносит вред индивиду. Однако важно помнить, что Дарвин не исключал возможность того, что естественный отбор мог благоприятствовать признакам, которые вредны для индивида: «Племя, состоящее из множества членов, ... всегда готовых помогать друг другу и жертвовать собой ради общего блага, одержало бы победу над большинством других племён; и это был бы естественный отбор» ([9], стр. 500). Следовательно, было бы несправедливо верить тому, что концепция фенотипа несовместима с идеями Дарвина или является их преодолением. Правильнее понимать категорию фенотипических явлений как нечто недооценённое в прошлом, не описываемое как совокупность явлений, которые можно было охватить одним термином, а, может быть, необоснованно воспринимать как ряд редких и любопытных ис-

ключений из правила королевы о «выживании сильнейших».

Однако, как показано при обсуждении настоящей работы, концепция фенотипа должна преодолеть глубоко укоренившиеся предвзятые представления, беспочвенность которых доказана как теоретическими аргументами, так и эмпирическими данными.

Представление о старении как о запрограммированном явлении иногда описывается как несостоятельное, не подкреплённое доказательствами, с сильными аргументами против. Например, «с точки зрения эволюции, предполагается, что старение вызвано не активным генным программированием, а развившимися ограничениями в соматическом поддержании, что приводит к накоплению повреждений ... доказательств существования такой программы мало, и есть веские аргументы в пользу того, почему её не должно быть» [10].

Напротив, тема настоящей обзорной статьи заключается в том, можно ли корректно определить старение как форму фенотипа, т.е. обоснованно ли рассматривать старение как адаптивный феномен, которому благоприятствует естественный отбор, определяемый и регулируемый специальными механизмами.

В частности, в начале «Дискуссии» анализируется: (1) правильно ли принимать некоторые обычно выдвигаемые аргументы против идеи старения как адаптивного и запрограммированного явления; и (2) правдоподобие некоторых аргументов и фактов в поддержку противоположного представления о старении как о неадаптивном и незапрограммированном явлении.

Затем обсуждается существование или отсутствие специфических механизмов, определяющих старение, которые необходимы в случае старения как фенотипического явления и неоправданны – в противоположном случае.

ДИСКУССИЯ

Аргументы и свидетельства в пользу двух взаимно противоположных интерпретаций процесса старения. Популярные аргументы против гипотезы старения как адаптивного феномена. В качестве предварительных возражений против возможности восприятия старения как адаптивного явления, которое является необходимым условием для того, чтобы считать старение разновидностью фенотипа, часто выдвигаются три аргумента. Однако эти аргументы противоречат фактам и не кажутся убедительными.

1. *Старение как универсальное и неизбежное явление.* Популярна идея, что старение является универсальным и поэтому неизбежным явлением для любого вида (например: «В отличие от любой болезни, возрастные изменения ... происходят у каждого многоклеточного животного, достигающего фиксированного размера в период репродуктивной зрелости ... происходят практически во всей живой и неживой материи» [11]). Согласно этой концепции, безусловно, возможно старение более или менее быстрыми темпами, но нестареющих видов не существует. Следовательно, поскольку старение является универсальным и вполне естественным явлением, оно не требует особых обоснований.

Эта концепция полностью опровергается доказательствами. Достаточно прочесть материал, изложенный в хорошо известном трактате Finch [7], и аргументы, сформулированные в статье, посвящённой фенотопозу [5], и в главе 2 недавно вышедшей книги Libertini et al. [6]. Короче говоря, ограничиваясь только многоклеточными видами и несколькими категориями примеров, большое количество видов демонстрируют в качестве своего нормального срока жизни явные фенотопотические явления, отличные от старения, как определено выше [3]. Многие виды как среди животных, так и среди растений размножаются только один раз, а затем умирают (семеларность, *semelparity*). Для многих растений и насекомых характерны годовые циклы, которые генетически предопределены и заканчиваются их гибелью. Как крайний пример, многие виды насекомых во взрослом состоянии не питаются или даже имеют дефектные системы питания, не позволяющие питаться (афагия). Эти случаи описаны в трактате Finch [7] в главе «Быстрое старение и внезапная смерть».

Однако термин «старение», используемый для вышеупомянутых видов, может привести к некоторой путанице из-за существования других видов, у которых увеличение смертности происходит постепенно. Этот процесс описывается как «постепенное старение с определённой продолжительностью жизни» [7] и подпадает под вышеупомянутое определение старения.

Другое возможное непонимание заключается в том, что «быстрое старение и внезапная гибель» обязательно предполагает короткую продолжительность жизни, что совсем не соответствует действительности: «Различные виды толстоствольного бамбука (*Phyllostachys*) отличаются продолжительными фазами вегетативного роста, которые длятся многие года

или десятилетия (7, 30, 60 или 120 лет) в зависимости от вида, прежде чем внезапно расцвести и умереть...» ([7], стр. 101).

Однако все эти случаи «быстрого старения» явно генетически предопределены и, следовательно, запрограммированы и подпадают под определение фенотопоза.

Особи некоторых видов не гибнут вследствие фенотопоза а, напротив, у них с возрастом не наблюдаются какие-либо заметные признаки функционального спада («Negligible Senescence» или «незначительное старение») [7]. Точнее, можно сказать, что у многих видов нет возрастного повышения смертности в условиях их существования в дикой природе. Для некоторых видов, особенно тех, у которых увеличение размера приводит к большей устойчивости к хищникам, наблюдается возрастное снижение смертности (так называемое «негативное старение» [12], что может ввести в заблуждение).

Таким образом, за исключением всех случаев, упомянутых до сих пор, данные показывают, что только ограниченное число видов демонстрирует старение, как определено выше [3]. Иными словами, если рассматривать все виды, то старение – явление не универсальное, а довольно редкое. Сам факт, что человек и животные, которые нам известны, подвержены старению, является вероятным источником неправильного представления об универсальности старения.

Другая концепция заключается в неизбежности гибели особей любых видов. Например, в случае вида с «незначительным старением» постоянная смертность в любом возрасте не исключает риска смерти в любом возрасте и того, что умрут все особи этого вида. Кроме того, для такого вида нельзя исключить, что в искусственных условиях в возрастах, не существующих в природе, наблюдается возрастное повышение смертности, потому что явления сколько-нибудь вредные только в возрастах, не существующих в дикой природе, не могут подвергаться воздействию естественного отбора [3].

2. *Старение как явление, не имеющее селективного значения.* В некоторых исследованиях были выявлены явные доказательства того, что старение имеет небольшое значение или же оно не сказывается на показателе смертности в дикой природе, и, следовательно, не может иметь значение для естественного отбора.

Например: «Старение редко имеет место у диких животных, если оно вообще когда-либо происходит, потому что для них необычно прожить достаточно долго, чтобы испытать

это явление. То же самое можно сказать и про доисторических людей. Естественный отбор не мог влиять на такой процесс как старение, когда лишь немногие особи когда-либо жили достаточно долго, чтобы участвовать в процессе отбора» [11]; «имеется мало свидетельств того, что старение вносит существенный вклад в смертность в дикой природе, ... как правило дикие животные просто не живут так долго, чтобы состариться; следовательно, естественный отбор имеет ограниченные возможности, чтобы оказывать прямое влияние на процесс старения» [13].

В явном противоречии с этим мнением существует достаточное количество документов о возрастном увеличении смертности в популяциях в дикой природе и о том, что это увеличение смертности в значительной степени способствует сокращению средней продолжительности жизни [14, 15].

В частности, Nussey et al. [15] утверждают: «Появившиеся недавно результаты долгосрочных полевых исследований предоставили неопровержимые доказательства того, что старение обычно происходит в природе. Мы нашли такие доказательства у 175 различных видов животных из 340 отдельных исследований».

Кроме того, при анализе таблиц смертности некоторых видов уже в 1988 г. было отмечено, что средняя продолжительность жизни сократилась вдвое из-за этого увеличения смертности (т.е. старения), и, кроме того, за исключением особей, умерших до достижения зрелости, средняя продолжительность последующей жизни сократилась на две трети [3].

Следовательно, для видов, особи которых стареют, поскольку возрастное увеличение смертности существует в дикой природе и значительно изменяет среднюю продолжительность жизни, старение вообще не может не иметь селективного значения.

Другая концепция заключается в том, что особи, находящиеся на поздней стадии старения (например, долгожитель – в случае людей), отсутствуют в естественных условиях. Это не противоречит хорошо задокументированному факту, что возрастное увеличение уровня смертности (которое означает возрастное снижение функциональных свойств организма) хорошо прослеживается в естественных условиях, и, следовательно, в тех возрастах, в которых прирост смертности превышает критический уровень, выживание становится невозможным, и особи этих возрастов не обнаруживаются.

Необходимо избегать «смещения процесса старения с состоянием старости» [16], т.е. необходимо различать возрастное сниже-

ние способности к выживанию (т.е. старение) и возраст, в котором нарушение биологического угасания серьезно снижает способность к выживанию. Более того, период, в котором смертность возрастает и до состояния старости, непременно подлежит естественному отбору. Это хорошо выразил Williams [16]: «Никто не счёл бы 30-летнего мужчину стариком, однако при сопоставлении спортивных достижений и соответствующего возраста, в это десятилетие происходит сильное старение. Несомненно, эта часть жизненного цикла человека связана с естественным отбором».

3. *Старение как неадаптивный феномен, потому что оно не оправдано с точки зрения индивидуального отбора.* Главный аргумент, который используется против возможности старения как адаптивного феномена заключается в том, что ген, вызывающий старение, безусловно, вреден для индивида, и поэтому естественный отбор не может благоприятствовать такому гену: «... любой гипотетический “ген ускоренного старения” был бы невыгоден индивиду. Следовательно, трудно понять, как гены ускоренного старения могут поддерживаться в стабильном равновесии, поскольку индивиды, у которых гены были инактивированы мутацией, получили бы преимущество отбора» [13]. «Аномальная природа старения как предполагаемой адаптации заключается в том, что оно вредно для индивида, у которого проявляется этот процесс. Животное, которое вырастает до зрелости, а затем размножается бесконечно, обладает при прочих равных условиях большей дарвиновской приспособленностью, чем животное, которое вырастает до зрелости, а затем выживает и размножается только в течение фиксированного периода времени» [17].

Изменение частоты между одним поколением и последующим гена S , действующего на индивид I (Δ_c), может быть выражено следующей формулой:

$$\Delta_c \propto S \cdot P, \quad (1)$$

где S – преимущество или недостаток (т.е. большая или меньшая приспособленностью) для I , вызванное геном S ; P – остаточная репродуктивная способность I в возрасте, когда S действует.

Если значение S отрицательно, Δ_c тоже будет отрицательным, т.е. частота гена S уменьшится. Следовательно, согласно этой формуле, любой вредный для особи, в которой он действует, ген будет элиминирован естественным отбором, а значит, гены, вызывающие старение

и любые фенотипические явления, не могут быть адаптивными.

Рассмотрим теперь механизм надындивидуального отбора, известный как родственный отбор и основанный на инклюзивной приспособленности (inclusive fitness) [18, 19]. Этот селективный механизм рассматривает как особь I_1 , в которой присутствует и действует ген C , так и другие n особей, генетически связанных с I (I_2, I_3, \dots), для которых действие гена C имеет какое-либо значение для их способности к выживанию. В этом случае Δ_c описывается формулой:

$$\Delta_c \propto \sum_{x=1}^n (S_x \cdot P_x \cdot r_x), \quad (2)$$

где S_x — преимущество или недостаток для индивидуального I_x в результате действия C ; P_x — репродуктивная ценность I_x в том возрасте, когда действует C ; r_x — коэффициент связи между I_x и I_1 .

Если значение суммы положительно, то естественный отбор благоприятствует гену C . Это может также происходить в случае, при котором значение S_1 отрицательно (т.е. в том случае, когда C невыгоден индивиду I_1 , в котором он действует).

Следует отметить, что если C воздействует только на I_1 , то формула (2) превращается в формулу (1). Следовательно, отбор на индивидуальном уровне является лишь частным случаем более общего способа описания естественного отбора, и две приведённые формулы не представляют альтернативные теории.

Более того, как обсуждалось в исследовании Libertini et al. ([6], §2.2), надындивидуальный отбор, частный случай группового отбора, можно описать в терминах инклюзивной приспособленности с помощью соответствующих преобразований формулы (2), а конкретные популяционные модели также позволяют объяснить существование генов, которые вредны для организма, в котором они действуют. Важный вывод состоит в том, что неправильно априори исключать возможность того, что гены, вредные для индивида, в котором они действуют (например, гены, определяющие старение или вообще явления фенотипа), благоприятствуют естественному отбору.

Слабые стороны теорий, поддерживающих гипотезу старения как неадаптивного феномена. Несмотря на обоснованность трёх вышеупомянутых аргументов против возможности того, что старение представляет собой адаптивное явление, существуют три традиционные теории, которые так или иначе пы-

таются рассмотреть механизмы отбора, чтобы оправдать старение, а также разнообразный набор теорий, объясняющих старение, как постепенное накопление действия вредных агентов разного типа.

1. *Теория накопления мутаций* [20, 21]. Эта теория берёт своё начало от того факта, что со временем число выживших особей уменьшается, и, следовательно, вредный ген, который оказывает действие на особи в более старшем возрасте (назовём его для краткости «t-ген»), удаляется в ходе естественного отбора слабее, чем эквивалентный ген, действующий в более молодом возрасте. Следовательно, вредные гены, действующие в более старшем возрасте, путём накопления своих вредных эффектов постепенно вызывают общие возрастные нарушения, определяемые как старение.

Ещё в 1988 г. [3] была предложена простая математическая модель, чтобы проверить, может ли большая нагрузка t-генов вызвать прогрессирующее возрастное увеличение смертности, т.е. можно ли определить таблицу долголетия (life table), сходную с той, что наблюдается у стареющего вида. Модель, вновь предложенная в других работах (например, [6, 22]) и никогда не опровергнутая остальными авторами, продемонстрировала, что t-гены не приводят к таблицам долголетия вышеупомянутого типа и что, следовательно, t-гены не являются вероятной причиной старения.

Однако, принимая во внимание, что теория накопления мутаций является допустимой гипотезой, она должна объяснять отличия в темпах старения у разных видов. Конечно, малоубедительно постулировать, что у видов с низкими скоростями старения число и эффекты t-генов меньше и что у видов с «незначительным старением» t-генов недостаточно, чтобы вызвать заметное старение.

Более того, в теории накопления мутаций есть ещё один скрытый постулат, а именно: частота мутаций, не устранённых особыми механизмами, не может быть дополнительно ограничена естественным отбором. Но и у этого тезиса есть противоречия.

- Существует обратная зависимость между продолжительностью жизни и частотой соматических мутаций в год [23] (конечно, учитывая только те мутации, которые не устраняются специфическими механизмами). Без этой обратной зависимости у животных с большей продолжительностью жизни должно быть больше клеток с критическим уровнем мутаций, вызывающих рак [24]. Фактически, это свидетельствует о том, что естественный отбор вполне способен разработать эффективные механизмы

для сдерживания мутаций, и, следовательно, кажется необоснованным утверждать, что старение каким-то образом вызвано накоплением мутаций, против которых естественный отбор не может противостоять.

• Некоторые исследования показывают, что у людей с генетическими изменениями, вызывающими более высокую частоту мутаций, не наблюдается признаков ускоренного старения [25], «что противоречит прямой связи между накоплением мутаций и старением» [24].

2. *Теория антагонистической плейотропии* [16, 26]. Эта теория постулирует существование генов с полезными эффектами в молодом и зрелом возрасте, но вредными в старшем возрасте. Поскольку преимущество в раннем возрасте перевешивает недостаток в более позднем возрасте (также потому, что в этом более позднем возрасте меньше выживших), эти плейотропные гены будут одобрены естественным отбором, и поэтому их кумулятивные эффекты будут определять старение.

Косвенно, эта теория также постулирует отсутствие или невозможность существования аналогичных генов, выгодных для всех возрастов.

Кроме того, если мы хотим объяснить различия между различными видами в ритмах старения (т.е. темпы увеличения смертности), представляется необходимым постулировать, что количество и эффекты гипотетических генов с плейотропными эффектами пропорциональны ритмам старения.

Наконец, желая объяснить существование видов с «незначительным старением», представляется также необходимым постулировать, что у таких видов вышеупомянутые гипотетические гены настолько немногочисленны и обладают столь ограниченными эффектами, что оправдывают невозможность обнаружения старения.

К сожалению, помимо множества постулатов, которые затрудняют принятие теории в качестве научной, нет никаких доказательств существования генов с вышеупомянутыми плейотропными эффектами (первый постулат), а также каких-либо элементов, подтверждающих другие выделенные постулаты.

3. *Теория одноразовой сомы* [27, 28]. Эта теория постулирует, что для организма существуют ограниченные ресурсы, которые лучше не конкретизированы.

Допуская этот предел, так как организм должен обязательно делить недостающие ресурсы для наилучшего удовлетворения всех потребностей, естественный отбор выбирает компромисс между необходимостью повышения репродуктивной способности и потребностью

в постоянном восстановлении физиологических систем, т.е. противодействии старению. Частичное удовлетворение потребностей второго типа прогрессивно ухудшает функциональные возможности организма, т.е. определяет старение.

Существуют и другие более или менее явные постулаты этой теории: (1) наличие неопределённого ресурса с ограниченной доступностью; (2) ограничение упомянутого ресурса вынуждает выбирать между репродуктивным потенциалом и способностью противодействовать снижению функций; (3) при сравнении видов есть различия в ограничении ресурсов в зависимости от скорости старения особей; (4) такого ограничения ресурсов не существует у видов с «незначительным старением».

Для этой теории, кроме множества постулатов, которые затрудняют её принятие в качестве научной, также нет работ, доказывающих существование неопределённого ресурса с ограниченной доступностью или обратной зависимости между репродуктивной способностью и темпами старения.

Кроме того, ограничение калорий, которое, предположительно, ещё больше сократило бы гипотетический ограниченный ресурс, должно лимитировать продолжительность жизни, но данные, по-видимому, противоречат этому прогнозу (для обсуждения см. Libertini et al. [6], §4.4.5, «Влияние ограничения калорий на продолжительность жизни»).

4. *Теории накопления повреждений* [6, 29]. Есть много факторов, которые, как предполагается, вызывают прогрессирующее повреждение организмов и, следовательно, старение. Например: клеточный «износ»; механохимическое разрушение клеточных коллоидов; изменения в определённых тканях (нервной, эндокринной, сосудистой, соединительной); токсические продукты кишечных бактерий; накопление «металлазмы» или метаболитов; действие силы тяжести; накопление тяжёлой воды; возрастающая энтропия; накопление химических изменений из-за ошибок транскрипции ДНК; вредные эффекты окислительных процессов; окислительные эффекты свободных радикалов на ДНК, митохондрии и весь организм; возрастные воспалительные явления; возрастные изменения иммунной системы [6, 29].

Для некоторых из этих теорий отправной точкой является хорошо известная связь между старшим возрастом и явлениями, предложенными в качестве причин старения. Например, воспалительные явления и иммунологические изменения коррелируют с возрастом и предполагаются в качестве причины старения [30, 31].

Однако указанная ассоциация не позволяет исключить обратное, т.е. что старение является причиной возрастного нарастания воспалительных явлений и иммунологических изменений.

Аналогичное возражение можно сформулировать и для теорий, согласно которым старение обусловлено явлениями окисления, на основании известной связи между старением и накоплением продуктов окисления. Что касается противоположного тезиса о том, что старение приводит к накоплению окисленных веществ, то уместно сообщить, среди прочего, о различных экспериментальных работах, в которых с помощью различных манипуляций дифференцированные клетки доводятся до состояния эмбриональных или стволовых клеток (SC), в которых не происходит накопления окисленных веществ. Например: (1) введение четырёх факторов (Oct3/4, Sox2, c-Myc и Klf4) трансформирует (т.е. перепрограммирует) взрослые фибробласты в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC, induced pluripotent stem cells), которые имеют гены клеточных маркеров и ростовые свойства эмбриональных стволовых клеток (ES) [32]; у человека тетраплоидные клетки, обладающие функциональными характеристиками ES, были получены путём слияния соматических клеток с ES («Анализ полногеномной транскрипционной активности, активации репортерного гена, экспрессии аллель-специфического гена и метилирования ДНК показал, что соматический геном был перепрограммирован в эмбриональное состояние» [33]).

В отдельных случаях предполагаемая связь между старением и конкретной причиной, по-видимому, противоречит доказательствам. Например, в случае гипотезы о том, что на старение влияет более быстрый метаболизм, учитывая, что потребности полета требуют ускоренного метаболизма, этому тезису противоречит наблюдаемая у птиц поразительная продолжительность жизни по сравнению с млекопитающими («Максимальная продолжительность жизни у птиц ... существенно длиннее, чем у млекопитающих сопоставимого размера и активности» [29]).

В целом, говоря о причинном приоритете старения или, наоборот, клеточных повреждений разного типа, важно помнить, что утверждает Fossel [34] на основе результатов многих работ: «Клетки стареют не из-за износа, а потому, что они допускают изнашивание из-за изменённого паттерна экспрессии генов» (стр. 53); «клетки не стареют, потому что они повреждены, но допускают повреждение, потому что они стареют» (стр. 55).

Однако в целом теории накопления повреждений не объясняют различий в скорости старения, обусловленных предполагаемым вредным фактором, и не объясняют существование видов с «незначительным старением».

Общий аргумент против теорий неадаптивного старения и в поддержку противоположного тезиса. Фактор, общий для всех упомянутых ранее теорий, заключается в том, что старение всегда интерпретируется как нечто, противопоставляемое отбору, поскольку оно неизбежно вредно. В соответствии с этими теориями, если внешняя смертность (т.е. базовый уровень смертности, отличный от повышения уровня смертности из-за старения) высока, сила естественного отбора, направленная против естественного старения, действует менее эффективно, и поэтому теоретический прогноз состоит в том, что старение происходит раньше и сильнее: «Предполагается, что основным определяющим фактором в эволюции долголетия будет уровень внешней смертности. Если этот уровень высок, ожидаемая продолжительность жизни в дикой природе коротка, сила отбора быстро ослабевает, эффекты вредных генов накапливаются в более раннем возрасте, а отбор на высокий уровень соматического поддержания слаб. Следовательно, прогнозируется, что организм будет жить недолго ... И, наоборот, если уровень внешней смертности низок, отбор, как предсказано, отсрочит вредные генные эффекты и направит большие инвестиции в создание и поддержание прочной сомы» [13].

Первая теория, которая, используя точную теоретическую модель, предлагала старение как адаптивный феномен, с точки зрения надывидуального отбора, предсказывала прямо противоположное, а именно: при прочих равных условиях при более высоких уровнях внешней смертности старение будет откладываться, что приведёт к увеличению продолжительности жизни, и что противоположное произошло бы при более низких уровнях внешней смертности («эффект Мафусаила» [3]). Аналогичный прогноз был предложен в других теоретических моделях, в которых старение было предложено как адаптивное явление, которому способствует естественный отбор на надывидуальном уровне [35–37]. Это, казалось бы, парадоксальное теоретическое предсказание можно объяснить в нематематических терминах простыми рассуждениями. Если старение, с точки зрения естественного отбора, положительно при определённых экологических условиях, но сдерживается недостатками, вызванными меньшей продолжительностью жизни,

то для вида будет оптимальным значение средней продолжительности жизни, при которой сбалансированы преимущества и недостатки старения. Средняя продолжительность жизни вида является следствием комбинированного действия старения (внутренней смертности) и внешней смертности. Если внешняя смертность выше, внутренняя смертность должна быть ниже, чтобы иметь вышеупомянутое оптимальное значение продолжительности жизни. Напротив, если внешняя смертность ниже, то внутренняя смертность должна быть выше, т.е. требуется более быстрое старение, если нужно достичь указанного выше оптимального значения.

Следовательно, мы имеем два противоположных теоретических предсказания в адаптивной и неадаптивной теориях старения. Однако в работе, основанной на наблюдениях в дикой природе [14], была описана обратная корреляция между внешней смертностью и ритмами старения, в соответствии с предсказанием адаптивных теорий старения и в противоположность тому, что предсказывали неадаптивные гипотезы старения. Это подчёркивалось и в других работах [6, 38, 39], но до настоящего времени нет работ, предлагающих альтернативную интерпретацию вышеупомянутых данных, которая могла бы быть совместима с неадаптивными теориями старения.

Существование механизмов старения в соответствии с тезисом о старении как о запрограммированном явлении. Современная наука фундаментально и прочно основана на экспериментальных данных. Судя по всему, даже лучшие теоретические аргументы и теории, которые кажутся совместимыми с фактами, не могут рассматриваться как самостоятельные научные теории при отсутствии чётких и бесспорных экспериментальных доказательств и подтверждений. Следовательно, хотя то, что было сказано до сих пор, может показаться подкрепляющим тезис о старении как о запрограммированном явлении (т.е. адаптивном и в рамках концепции феноптоза), вопреки противоположному тезису, первую гипотезу следует считать неопределённо обоснованной без поддержки однозначно интерпретируемых экспериментальных данных, подтверждающих её и в то же время фальсифицирующих противоположный тезис о старении как о незапрограммированном явлении. Следует подчеркнуть, что эта концепция также применима к противоположной общей идее старения как неадаптивного феномена и к всевозможным разнообразным теориям, которые подпадают под этот тезис, иногда представляемый как

надёжное научное объяснение старения (например, теории 1–3, обсуждаемые выше, дают дополнительные объяснения того, почему происходит старение) [13].

В связи с этим возможен принципиальный отличительный элемент между теориями, интерпретирующими старение как вредное явление, недостаточно противостоящее отбору, и противоположными теориями, интерпретирующими старение как адаптивный феномен. Для второго тезиса абсолютно необходимы специфические механизмы, генетически детерминированные и регулируемые, которые определяют и модулируют старение.

Гипотетическое существование таких механизмов, если бы они были описаны, продемонстрированы и подтверждены достоверными и разнообразными экспериментами, явилось бы необходимым и фундаментальным доказательством тезиса о старении как приспособительном феномене, т.е. как особой форме феноптоза. Действительно, возможное существование механизмов, которые каким-то образом постепенно ухудшают способность к выживанию, было бы доказательством старения как адаптивного и запрограммированного явления. Напротив, эти механизмы потребовали бы рациональных и веских обоснований, если бы противоположный тезис о старении как о неадаптивном явлении все же можно было бы считать правдоподобным.

В то же время можно привести сложный и изоциренный механизм, который, по-видимому, объясняет, как определяется старение. Этот механизм, описанный в двух недавно опубликованных работах [40, 41], определяется как «субтеломерно-теломерная теория старения». Он вытекает из предыдущей теории, определяемой как «теломерная теория старения», и является результатом десятилетий работы многих исследователей, большинство из которых не стремились так или иначе описать молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе старения как запрограммированного явления. Действительно, исследователи, которые внесли и продолжают вносить большой вклад в описание этих предполагаемых механизмов старения, часто являются сторонниками противоположного тезиса, утверждающего, что таких механизмов не существует. Например, Hayflick [11], долгое время являвшийся убеждённым сторонником тезиса о старении как неадаптивном явлении, впервые продемонстрировал пределы дубликации клеток [42], ранее считавшиеся несуществующими, но являющиеся фундаментальными для механизмов старения.

В настоящей работе вместо излишнего повторения всего того, что было изложено в двух цитированных выше работах [40, 41], будут намечены три основных фазы развития субтеломерно-теломерной теории, а также некоторые основные особенности предлагаемого механизма, в частности те, которые кажутся несовместимыми с тезисом о старении как неадаптивном и незапрограммированном явлении.

Фаза 1) Теория теломеры. В 1961 г. была опубликована ключевая работа, в которой было показано, что нормальные неопухолевые клетки ограничены в своей способности к дублированию [42]. Что касается этого предела, спустя десять лет Olovnikov [43] заметил, что фермент, катализирующий дублирование молекулы ДНК, не осуществляет репликацию небольшого концевых участка молекулы. Поэтому молекула ДНК при каждой её дубликации укорачивается, и это может быть рациональным объяснением ограничения способности к дубликации.

Вскоре тот же автор указал, что для оправдания большей способности к дубликации или отсутствия пределов дубликации стволовых и зародышевых клеток необходим фермент, чтобы частично или полностью восстановить после дубликации клетки нереплицируемый участок молекулы ДНК [44]. Этот фермент (впоследствии названный теломеразой) был выделен 12 лет спустя [45].

Серия открытий привела к появлению гипотезы, которая, как казалось, объясняет старение. Последовательное укорочение концевых участков молекул ДНК (теломер) может служить оправданием прогрессирующих клеточных изменений, в том числе запуска механизма клеточного старения (см. ниже) и последующего нарушения деятельности всего организма в целом, а именно, старения. Однако этой теории, которую можно определить как «теломерную теорию старения», противоречили некоторые экспериментальные данные.

• При сравнении между разными видами не было выявлено корреляции между длиной теломеры и продолжительностью жизни [46]. Например, у людей теломеры короче, чем у мышей и хомячков, но люди живут дольше [47]. Кроме того, между клетками клонированного животного, полученными из соматической клетки донора, и донорскими клетками длины теломеры были разными в первой половой клетке каждого организма, но продолжительность жизни оказалась одинаковой [48, 49]. Эти свидетельства и другие экспериментальные доказательства того же типа (см. также книгу Fossel [34], стр. 59–61) противоречили правдоподобию теломерной теории.

• В синхронно делящихся клеточных культурах при достижении определённого критического количества дубликаций (т.е. при достижении критического укорочения теломеры) не происходил запуск процесса клеточного старения, но появлялась, как явление, прогрессивно возрастающая вероятность прекращения дубликации, коррелирующая с укорочением теломер, но не определяемая критическими уровнями их укорочения [50].

• Клетки, не демонстрирующие дубликации и обновления в организме (многолетние клетки, например, большинство нейронов), и, следовательно, без какого-либо укорочения теломер стареют, как и обновляющиеся клетки.

Следовательно, теломерная теория оказалась неподходящей для объяснения старения и могла бы в лучшем случае объяснить некоторые особенности этого феномена.

Фаза 2) Субтеломерно-теломерная теория её первой формулировке. Затем была предпринята попытка преодоления недостатков теломерной теории путём допущения фундаментальной роли части молекулы ДНК, примыкающей к теломере, а именно субтеломеры [34, 51], и это предложение было определено как «субтеломерно-теломерная теория» [6, 40, 52].

Эта теория основана главным образом на двух явлениях: (1) в дрожжевых клетках гены, вставленные в субтеломерное положение, в определённых условиях репрессируются [53]; (2) у дрожжей, которые являются одноклеточными организмами, теломераза в диких штаммах всегда находится в активном состоянии, и, следовательно, теломера не укорачивается при каждой дубликации. Каждая клетка делится на две клетки, одна из которых называется материнской клеткой, а другая — дочерней клеткой. В клетках материнской линии при каждой дубликации происходит накопление на субтеломере определённых молекул, внехромосомных рибосомных колец ДНК (ERC), с прогрессирующим ингибированием субтеломеры, определяющим торможение бесчисленных клеточных функций и возрастающим риском клеточного старения, что у дрожжей приводит к апоптозу, т.е. гибели клетки [54]. Кроме того, в мутантных дрожжевых клетках *tlc 1Δ*, теломераза которых неактивна, в клетках дочерней линии, в которых не происходит накопления ERC, в связи с укорочением теломеры при каждой дубликации, наблюдаются клеточные изменения, не отличимые от таковых клеток материнской линии [55].

Эти экспериментальные результаты и другие, которые для краткости здесь не описаны, привели к предположению, что существует

«...гетерохроматиновый “капюшон”, который покрывает теломеру и переменную длину субтеломерной хромосомы ... По мере укорочения теломеры капюшон соскальзывает далее вниз по хромосоме ... (размер гетерохроматинового капюшона не изменяется, и он просто перемещается вместе с укорачивающимся концевым участком) ... в результате происходит изменение картины транскрипции в участках хромосомы, которые прилегают к теломерному комплексу, обычно вызывая сайленсинг (заглушение) транскрипции, хотя контроль, несомненно, более сложен, чем просто эффект теломер из-за близости ... Эти заглушенные гены могут, в свою очередь, модулировать другие, более отдаленные гены (или набор генов). Имеются некоторые прямые доказательства такой модуляции в субтеломере» ([34], стр. 50).

Короче говоря, субтеломерно-теломерная теория предлагала:

(1) существование теломерного капюшона с размером, установленным в первой клетке организма и смоделированным на основе длины теломеры, а не на основе заранее определённой длины;

(2) неизменность размера капюшона при каждой дупликации;

(3) этот капюшон у многих многоклеточных организмов и у человека в связи с укорочением теломеры при каждой дупликации (что происходит, если теломера неактивна) скользил по субтеломерам и постепенно ингибировал всё больше конкретных гипотетических последовательностей, определяемых как «R»-последовательности (этот механизм также действовал в дочерней линии мутантных клеток дрожжей *tlc1Δ*, тогда как в клетках материнской линии диких штаммов ингибирование субтеломеры было обусловлено прогрессирующим накоплением ERC);

(4) репрессия гипотетических субтеломерных последовательностей «R» вызывала разные модуляции других последовательностей, регулируемых ими; это вызывало следующие модуляции многих других клеточных последовательностей с прогрессивным общим изменением клеточных функций;

(5) среди этих изменений также была прогрессивно возрастающая уязвимость к активации клеточного старения, «фундаментальной клеточной программы» [56], характеризующейся многими изменениями клеточных функций, включая клеточную секрецию (секреторный фенотип, ассоциированный со старением, SASP), которые наносят вред другим клеткам, а также органам и тканям, состоящим из этих клеток [57], и «связаны с воспалением и злокачественностью» [58].

Следует отметить, что у дрожжей клеточное старение вызывает апоптоз клетки и немедленную смерть. Напротив, у видов с многоклеточными организмами старение клеток вызывает устойчивость к апоптозу, но накопление стареющих клеток снижает общую работоспособность организма, вызывая или усугубляя болезненные состояния и риск смерти настолько, что элиминация стареющих клеток — активно изучаемый метод борьбы с различными видами заболеваний и даже со старением [52].

Субтеломерно-теломерная теория позволила преодолеть первые два из вышеупомянутых возражений теломерной теории (о третьем возражении см. ниже).

Во-первых, гипотеза о том, что размер капюшона был определён в первой клетке организма и не менялся при укорочении теломеры означала, что длина теломеры в первой клетке не имеет значения, а последующее укорочение теломеры при каждой дупликации имело решающее значение для работоспособности клеток и, следовательно, организма. Следовательно, связи между исходной длиной теломер и продолжительностью жизни больше не ожидалось, и это согласовывалось с доказательствами отсутствия корреляции между этими двумя значениями.

Во-вторых, поскольку субтеломерная репрессия была прогрессивной, из этого вытекала прогрессивно возрастающая уязвимость к клеточному старению, что объясняет, почему активация клеточного старения не была обусловлена критической длиной теломер, а была связана с прогрессивным укорочением теломер.

Субтеломерно-теломерная теория дала ответ и на другое возможное возражение. В каждой клетке много теломер (например, поскольку на каждую молекулу ДНК приходится 2 теломеры, на каждую хромосому — 2 копии молекулы ДНК, а хромосом — 23, следовательно, число теломер = $2 \times 2 \times 23 = 92$), и они не имеют одинаковой исходной длины (т.е. в первой клетке организма). Среди хромосом одной и той же клетки «длины теломер в пределах одной и той же клетки неоднородны, и определённые участки хромосом (chromosome arms) обычно имеют либо короткие, либо длинные теломеры» [59]. Более того, длина теломеры отличается у отдельных представителей одного вида, и эти различия наследуются от родителей [60].

Любой механизм, основанный на исходной абсолютной длине теломеры, привёл бы к появлению различных способов регуляции в зависимости от разной длины теломеры, и это было бы вероятным источником дисгармонии. Напротив, предполагая существование

капюшона, который был смоделирован в первой клетке организма по определённой длине каждой теломеры, для теломер разной длины одно и то же укорочение (в терминах потерянных пар нуклеотидов) определяло бы одинаковую степень субтеломерной репрессии.

Однако у субтеломерно-теломерной теории, хотя она выглядит рационально последовательной и с предсказаниями, согласующимися с фактами, имеется уязвимое место. Действительно, она предполагает существование определённых теломерных последовательностей (последовательностей «R»), о которой были косвенные теоретические подсказки, но не было прямых доказательств. Следовательно, теория может быть оценена как возможная, но не подтверждена прямыми доказательствами.

Фаза 3). Субтеломерно-теломерная теория и последовательности TERRA. Однако в то время, как последовательности «R» были предсказаны без получения прямых доказательств их существования, последовательности с предполагаемыми для них характеристиками уже были активным объектом изучения блестящих исследователей, которые, по-видимому, никоим образом не преследовали цели заполнить вышеупомянутый пробел в субтеломерно-теломерной теории.

Еще в 1990 г. в работе Brown et al. [61] были подробно описаны две субтеломерные последовательности, названные TelBam3.4 и TelSau2.0, с консервативными участками (длиной 1,6 т.п.н. и 1,3 т.п.н.), точно описанными Nergadze et al. [62].

Эти последовательности, определяемые как РНК, содержащие теломерные повторы (Telomeric Repeat-containing RNA, TERRA), здесь для краткости будут обозначаться «Т-последовательности»: (1) не кодируют белки; (2) однако они подвержены транскрипции с образованием последовательностей РНК (здесь для краткости называемые «Т-транскрипты»); (3) были описаны в клетках человека, а также в клетках мышей, рыбок данио (Zebrafish), растений и дрожжей (ссылки см. в обзоре Libertini et al. [40]).

Т-последовательности. У млекопитающих в результате действия фермента РНК-полимеразы II происходит запуск процесса транскрипции на промоторе в субтеломерном участке молекулы ДНК, и он продолжается в направлении мотивов теломерных повторов, включая транскрипцию некоторых из них [63–65]. Транскрипция Т-последовательностей начинается с субтеломерных промоторов, локализованных как минимум на двух третях концов хромосом [62, 66, 67].

«Первые идентифицированные субтеломерные промоторы человека содержат богатые динуклеотидами CpG островки ДНК общие для нескольких концов хромосом ... Эти островки CpG характеризуются наличием так называемых повторов 61-29-37, локализованных непосредственно перед сайтом начала транскрипции TERRA (Transcription Start Site, TSS) и на расстоянии ~1 т.п.н. от теломерного тракта» [68].

Т-последовательности являются общим признаком эукариотических клеток и «появляются в качестве новых ключевых игроков в нескольких важных биологических процессах» [68]. Было подчеркнуто, что «TERRA эволюционно консервативны у позвоночных» [69], и это подразумевает, что они, безусловно, выполняют очень важную функцию с древних времён.

«Охват чтения TERRA был высоким в субтеломерных областях почти всех хромосом, особенно на хромосомах 2, 9, 13, 18 и половых хромосомах, с мишенями, находящимися на расстоянии до десятков т.п.н. от теломерного повтора, ... TERRA также связывается во внутренних хромосомных областях и в генах, где предпочтение отдаётся интронам ... TERRA связывается с мишенями на хроматине по всему геному ... TERRA связывается с теломерами как в *цис*-, так и в *транс*-положениях в последовательностях генов или вблизи от них» [70].

Имеются «значительные изменения в экспрессии мишеней TERRA по сравнению с не-мишенями после деплеции TERRA ...», что указывает на то, что гены-мишени TERRA, с большей вероятностью, будут затронуты деплецией TERRA. Интересно, что субтеломерные гены-мишени постоянно подавлялись ... Внутренние гены-мишени могли либо активироваться, либо подавляться ... В геноме эмбриональных стволовых клеток (ES) мыши мы идентифицировали тысячи сайтов связывания *цис*- и *транс*-хроматина» [70].

Т-транскрипты связываются со многими локусами, расположенными вне теломер, где некодирующие последовательности ДНК, вероятно, выполняют важные регуляторные функции, касающиеся экспрессии генов [70, 71].

«Подавляющее большинство сайтов связывания TERRA было обнаружено вне теломер, преимущественно в дистальных межгенных и интронных областях генома, где TERRA регулирует экспрессию генов» [68].

Было показано, что физическая нагрузка повышает уровень TERRA в биоптатах скелетных мышц здоровых молодых людей, и это соответствует идее о том, что физическая активность защищает от старения [67].

T-последовательности и защита теломер. В ES мышей деплеция T-транскриптов связана со снижением уровня защиты теломер [70, 71]. Блокирование транскрипции T-последовательности связано с изменениями кэпирующей функции, и после деплеции TERRA была показана потеря целостности теломер [70].

T-транскрипты противодействуют ATRX, особому белку, связанному с X-ассоциированным синдромом умственной отсталости при альфа-талассемии (alpha thalassemia mental retardation X-related syndrome), и важны для защиты теломер: «TERRA и ATRX имеют сотни общих генов-мишеней и функционально антагонистичны в этих локусах: если TERRA активирует, то ATRX подавляет экспрессию генов. На теломерах TERRA конкурирует с теломерной ДНК за связывание ATRX, подавляет локализацию ATRX и обеспечивает стабильность теломер» [70]. Ингибирование транскрипции T-последовательностей активирует механизмы ответа на повреждение ДНК на теломерах [72]. Делеция локуса 20q определяет сильное снижение уровня TERRA и последующую массивную реакцию на повреждение ДНК, что, по-видимому, является «демонстрацией в любом организме существенной роли TERRA в поддержании теломер» [73].

Характеристики T-последовательности, по-видимому, точно соответствуют субтеломерно-теломерной теории, которая предполагает существование «R»-последовательностей. Действительно, они расположены в субтеломерах, ингибируются в связи с укорочением теломер по отношению к исходной длине, имеют транскрипты, выполняющие регуляторные функции в отношении других регуляторных последовательностей, находящихся как вблизи, так и на удалении в молекуле ДНК, в которой они присутствуют, но также и в других молекулах ДНК в той же клетке. T-последовательности влияют различными способами на бесчисленные функции клеток, необходимы для стабилизации теломер и, следовательно, также для снижения вероятности активации клеточного старения; они широко распространены и эволюционно стабильны и поэтому, безусловно, выполняют очень важную функцию.

Короче говоря, T-последовательности — это последовательности «R», преобразованные из гипотезы в реальность. Что касается функционального значения T-последовательностей, то для любого возможного объяснения, отличного от того, что выражено субтеломерно-теломерной теорией, необходимо было бы предоставить обоснование того, почему последовательности, имеющие такое большое

значение для функционирования целой клетки, находятся в наиболее уязвимом для ингибирования положении в случае укорочения теломеры. Напротив, для субтеломерно-теломерной теории T-последовательности и последствия их уязвимого положения являются фундаментальной частью механизма постепенного саморазрушения организма, и они, в соответствии с определением, предложенным Скулачевым [1], полностью совместимы с гипотезой старения как формы феноптоза.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ В ПРОЦЕССЕ СТАРЕНИЯ

Что касается эпигенетических модификаций при старении, следует учитывать ряд фактов.

- Существует строгая корреляция между возрастом и эпигенетическими модификациями ДНК, которые также зависят от типа клеток и тканей [74, 75]. В частности, среди возрастных эпигенетических модификаций наиболее хорошо изучено метилирование цитозина-5 в составе динуклеотидов CpG, определяемое как метилирование ДНК [76, 77].

- Эпигенетические модификации в результате метилирования ДНК практически равны нулю для эмбриональных клеток и для индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, при этом они растут пропорционально числу клеточных дупликаций [76, 77]. Следует подчеркнуть, что эти эпигенетические изменения являются обратимыми, о чём свидетельствует тот факт, что трансформация взрослых соматических клеток в iPSC возвращает эти изменения к значениям, практически равным нулю, как для эмбриональных клеток [76].

- Последовательности CpG, которые показывают метилирование ДНК в зависимости от возраста [78–81], ограничены определёнными частями ДНК, в частности участками ДНК, где нуклеотиды CpG составляют примерно 1 на 10 п.н., определяемыми как CpG-островки (CGI). Они составляют только 2% от всей ДНК [74] и часто совпадают с сайтами начала транскрипции генов [82]. Метилирование этих CGI коррелирует с сайленсингом присутствующих в них промоторов [83], и, наоборот, деметилирование восстанавливает экспрессию промотора [84].

- Возрастное метилирование ДНК CGI в отдельных случаях представляет собой гипометилирование, а в других — гиперметилирование [80, 81, 85, 86].

- Для человека эти типы возрастного метилирования ДНК были предложены в качестве

индикаторов для оценки возраста. Наиболее достоверный индикатор [76] показывает корреляцию с возрастом, равную 0,96, и ошибку в 3,6 года.

• Подобные эпигенетические модификации задокументированы для млекопитающих в целом. При исследовании 128 видов млекопитающих (с максимальной продолжительностью жизни от 3,8 до 211 лет и аналогичным большим разнообразием веса взрослой особи) был предложен аналогичный показатель с корреляцией более 0,96 и медианной относительной ошибкой менее 3,5% [77].

• CGI кажутся эволюционно консервативными до такой степени, что это позволяет определить вышеупомянутый надёжный индекс, который действителен для млекопитающих в целом [77].

• Кроме метилирования ДНК, существуют и другие, связанные с возрастом, эпигенетические изменения (например, «снижение общих уровней коровых гистонов, изменения паттернов посттранскрипционных модификаций гистонов, ... замена канонических гистонов на их модифицированные варианты и изменение экспрессии некодирующих РНК» [87], метилирование гистоновых белков, ремоделирование нуклеосом, редукция гетерохроматина, изменение гистоновых меток [88, 89]). Однако в отношении этих эпигенетических изменений не было предложено ни одного надёжного индикатора, такого как два упомянутых выше.

Что касается корреляции между эпигенетическими модификациями и Т-последовательностями, мы имеем следующие данные:

• субтеломерные CGI «способствуют транскрипции молекул TERRA» [62];

• «уровень метилирования субтеломерной ДНК ... понижается пропорционально укорочению теломеры у мышей *Terc*^{-/-}» [90];

• у мышей метилирование субтеломеры связано с укорочением теломеры [91]; «кроме того, отмена основных эпигенетических регуляторов, таких как гистоновые метилтрансферазы и ДНК-метилтрансферазы, коррелирует с потерей контроля над длиной теломеры, а укорочение теломеры до критической длины влияет на эпигенетический статус теломеры и субтеломеры» [91];

• «у здоровых людей из контрольной группы, а также у больных саркоидозом было показано снижение доли длинных теломер (> 9,4 т.п.н.) и увеличение доли коротких теломер (< 4,4 т.п.н.) при старении, что сопровождалось относительным увеличением доли длинных теломер с гиперметилированием субтеломеры и коротких теломер с гипометилированием субтеломеры;

это даёт основание полагать, что возрастное укорочение теломеры связано с гипометилированием её субтеломеры» [92];

• в лейкоцитах человека «более короткие теломеры, связанные со сниженным уровнем метилирования множественных сайтов цитозина, расположены в пределах 4 млн п.н. от теломер ... значительное увеличение количества положительно ассоциированных метилированных сайтов CpG в субтеломерных локусах (до 4 млн п.н. вблизи теломеры) ($p < 0,01$)» [93]; укорочение теломеры изменяет экспрессию генов и увеличивает тяжесть и риск возникновения возрастных заболеваний [93].

Это означает, что с более длинными теломерами происходит большее деметилирование Т-последовательностей, а с более короткими теломерами – больше метилирование Т-последовательностей, что должно определять меньшую и большую репрессию Т-последовательностей соответственно.

Что касается эффектов, которые Т-последовательности (предположительно, являющиеся регуляторами первого уровня) оказывают на другие регуляторные последовательности (предположительно, регуляторы второго уровня), важным ключом является то, что сообщается (1) для клеток в отношении количества дупликаций; и (2) для клеток в состоянии клеточного старения, где должна быть максимальная репрессия Т-последовательностей:

• в случае мезенхимных стволовых клеток (MSC – mesenchymal stem cells) «экспансия этих клеток оказывает очень последовательное влияние на профили метилирования ДНК»; «517 CpG-сайтов постоянно отличались метилированием в ранних и поздних пассажах» [94];

• клеточное старение в случае MSC ассоциировано с гистоновыми метками старения, такими как триметилирование специфических мишеней и метилирование ДНК в определённых CGI [94];

• в старых MSC в одних CpG-сайтах наблюдается гипометилирование, а в других – гиперметилирование: «почти треть CpG-сайтов выявляют возрастные изменения по метилированию ДНК, из которых 60% становятся гипометилированными, а 40% – гиперметилируются при старении» [95].

Эти данные указывают на то, что существует связь между репрессией Т-последовательностей и рядом эпигенетических модификаций ДНК и что, таким образом, эти эпигенетические модификации, безусловно, связанные с возрастом, не первичны и не коррелируют с гипотетическими случайными факторами, а вторичны по отношению к более или

менее подавленной активности Т-последовательностей.

Следовательно, когда старение правильно описывается как эпигенетический феномен, это должно быть интегрировано, выделив зависимость этого явления от регуляции (т.е. степени репрессии) Т-последовательностей.

Тот факт, что старение является эпигенетическим явлением, не должен удивлять или заставлять нас думать, что это исключение в общей организации организма или, что ещё хуже, оно определяется случайными факторами.

Когда было обнаружено, что синтез белков связан с определёнными участками молекулы ДНК (генами), способными кодировать белок, первоначально считалось, что ДНК в основном состоит из генов. Последующее открытие, что очень большая часть ДНК не кодирует белок, даже привело к утверждениям о существовании «мусорной» ДНК [96]. Впоследствии было отмечено, что виды с огромной разницей в степени сложности их организации тем не менее имели одинаковое количество генов (например, «Научное сообщество было поражено тем, что количество генов человека равно количеству генов довольно простой нематоды» [97]). Проекты «Геном человека» и «ENCODE» показали, что «потенциал кодирования белков генома млекопитающих крайне ограничен ..., хотя кодируется только 2% генома, более 90% транскрибируется; эта транскрипционная активность в значительной степени продуцирует длинные некодирующие РНК (lncRNA), функции которых в основном остаются неизвестными» [70].

Всё это означает, что большая часть «программы», определяющей функции и развитие организма, находится не в той малой части ДНК, кодирующей белковые последовательности, а в оставшейся части ДНК, которая подвергается транскрипции, но не кодирует белки, и которая посредством механизмов репрессии/активации, повышающей/понижающей регуляции участков ДНК, не кодирующих или кодирующих белок, регулирует каждую характеристику организма как на клеточном уровне, так и в процессах развития и функционирования всего организма.

Следовательно, вполне вероятно, что каждая функция клетки и всего организма обычно достигается за счёт эпигенетических модификаций (т.е. регуляции), и неудивительно, что старение также является следствием эпигенетических модификаций. Следует также отметить, что определение старения как эпигенетического явления вряд ли совместимо с интерпретацией старения как результата случайного накопления разного рода повреждений.

КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

Клетка в состоянии, определяемом как клеточное старение, представляет собой клетку, в которой активирована специфическая «фундаментальная клеточная программа» [56], а не общее название «старая клетка». Старение клеток запускается в нормальных клетках различными факторами [56], такими как укорочение теломеры [98], и характеризуется: (1) репликативным старением, т.е. снижением способности клеток к репликации [99, 100]; (2) специфическими изменениями клеточных функций [100–102] с большими модификациями транскрипции («связанное со старением ремоделирование хроматина приводит к глубоким транскрипционным изменениям» [103]); (3) специфическими изменениями процесса внеклеточной секреции (секреторный фенотип, связанный со старением, SASP) [58, 104]; (4) устойчивостью к апоптозу [102, 105].

При идентификации стареющих клеток, используя экспрессию белка p16^{Ink4a}, было показано, что с возрастом увеличивается абсолютное количество этих клеток и их доля в общем количестве клеток [106, 107], причём их количество чётко связано с проявлениями старения и возрастными болезнями [108, 109].

Избирательное удаление стареющих клеток улучшает состояние и снижает проявления старения и возрастных заболеваний [109, 110]. Таким образом, их селективная элиминация соответствующими препаратами или комбинациями препаратов, сенолитиками, является важной и актуальной терапевтической целью [110, 111]. Эта тема подробно рассмотрена в обзоре Libertini et al. [52].

Очевидно, что стареющие клетки вредны для индивида, в котором происходит их накопление, и они сильно способствуют проявлениям старения и возрастных болезней. По субтеломерно-теломерной теории, эти клетки составляют основную часть повреждений, возникающих в результате укорочения теломер и последующей репрессии субтеломер, которые, среди прочего, повышают вероятность активации программы клеточного старения. Для теорий, интерпретирующих старение как неадаптивное и незапрограммированное явление, важно обосновать клеточное старение иначе, чем считать этот процесс частью механизма саморазрушения (т.е. старения).

Единственное альтернативное объяснение клеточного старения состоит в том, что это явление, поскольку оно каким-то образом препятствует пролиферации клеток, представляет собой общую защиту от рака [112, 113].

Более того, учитывая повреждения, вызываемые клеточным старением, это считалось эволюционным компромиссом между его вредом и необходимостью противодействия раковой пролиферации, т.е. хороший пример антагонистической плейотропии [114].

Есть много фактов и аргументов, которые противоречат этому предположению (подробно см. в обзорах Libertini et al. [52] и [6], §5.4 «Ограничения способности к дублированию клеток и другие эффекты системы теломера—субтеломера—теломеразы, объясняемые как общая защита от рака»). Приведём примеры.

- Старение клеток, как часть изменений, определяемых как SASP, обуславливает секрецию «множества факторов, связанных с воспалением и злокачественностью» [58].

- У мышей избирательная элиминация стареющих клеток определяла, помимо увеличения продолжительности жизни и меньшего количества возрастных изменений, также задержку прогрессирования рака [107].

- Различные исследования у людей показали связь между короткими теломерами и риском развития рака [115, 116].

- У нормальных мышей индуцированная экспрессия теломеразы замедляла старение и увеличивала продолжительность жизни, но не увеличивала риск развития рака [117].

- У дрожжей клеточное старение вызывает немедленный апоптоз, т.е. гибель клеток [118], и это не может иметь никакого противоракового значения у одноклеточных видов.

- Детальный анализ показал, что у 175 видов животных, исследованных в дикой природе, наблюдается прогрессирующее возрастное увеличение смертности, что значительно сокращает среднюю продолжительность жизни [15]. Однако документально подтверждено, что ни для одного из видов смертность от рака существенно не влияет на увеличение смертности в дикой природе. Представляется нелогичным предполагать, что клеточное старение является эффективной защитой от рака, поскольку оно снижает способность клеток к дубликации в возрасте, когда увеличение смертности резко снижает количество выживших, а рак всё ещё не оказывает существенного влияния на это количество выживших. Этот аргумент уже предлагался на основе данных, полученных при изучении человеческой популяции в дикой природе: «Это полностью опровергает гипотезу о том, что снижение способности клеток к размножению является защитой от рака: это всё равно, что утверждать, что защита против смертельной болезни имеет эффект массового убийства до того, как болезнь начнет убивать» [119].

- Однако «если клеточное старение предназначено для отсекаания раковых клеточных линий, то почему стареющие клетки остаются живыми и токсичными? Вместо этого их можно было бы запрограммировать таким образом, чтобы они были «хорошими гражданами» и демонтировали себя посредством апоптоза, чтобы облегчить переработку белков и питательных веществ; тот факт, что стареющие клетки выделяют яды, полностью согласуется с теорией о том, что клеточное старение является формой запрограммированной смерти организма» [120].

Короче говоря, клеточное старение, важная часть механизмов старения в контексте субтеломерно-теломерной теории и общей гипотезы запрограммированного адаптивного старения, не находит оправдания для принятия идеи о том, что старение является неадаптивным явлением.

ПОСТЕПЕННОЕ КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

Субтеломерно-теломерная теория утверждает, что по мере укорочения теломеры происходит прогрессирующее ингибирование субтеломер, т.е. T-последовательностей. Это вызывает: (1) прогрессирующее увеличение возможности активации клеточного старения; и (2) прогрессирующее изменение клеточных функций, явление, определяемое как «постепенное клеточное старение», которое следует отличать от клеточного старения [121].

Имеются доказательства, подтверждающие существование постепенного клеточного старения как феномена, отличного от клеточного старения.

- *In vitro* мезенхимные стволовые клетки демонстрируют постепенные изменения экспрессии мРНК наряду с «последовательным изменением глобальной экспрессии генов ... Эти изменения не ограничиваются более поздними пассажами, а постоянно приобретаются с увеличением числа пассажей» [122]. Кроме того, пропорционально числу дубликаций, в MSC наблюдается постепенное изменение уровня метилирования ДНК (гипометилирование в одних участках и гиперметилирование — в других), чья величина может быть использована для расчёта количества дубликатов [123–125].

- В работе о последствиях укорочения теломер Robin et al. [126] заявляют: «Наши результаты показали, что экспрессия подмножества субтеломерных генов зависит от длины теломер и что широко распространённые изменения

экспрессии генов индуцируются укорочением теломеры задолго до того, как теломеры укорачиваются, становятся скоростью-лимитирующим фактором деления клеток, или до того, как короткие теломеры инициируют передачу сигналов о повреждении ДНК. Эти изменения включают повышение и понижение уровня экспрессии генов».

При изучении постепенного клеточного старения необходимо избегать возможной путаницы из-за перекрывания в культуре эффектов постепенного клеточного старения в одних клетках и эффектов клеточного старения – в других. Эти трудности полностью удаётся избежать в культурах дрожжей – одноклеточных организмов, у которых старение клетки приводит к апоптозу, т.е. к гибели [127, 128]. У дрожжей в клетках материнской линии штаммов дикого типа (в которых теломераза всегда активна и, следовательно, не происходит укорочение теломеры при каждой дупликации [129]) репрессия субтеломеры вызвана накоплением ERC и, в зависимости от количества дупликаций, наблюдаются нарастающие функциональные изменения и предрасположенность к клеточному старению [127, 128]. Кроме того, в дрожжевых клетках мутантного штамма *tlc1Δ*, для которых характерна неактивная теломераза, при каждой дупликации происходит укорочение теломеры. Подавление субтеломеры, вероятно, вызвано соскальзыванием субтеломерного капюшона на теломеру: в клетках дочерней линии, в которой нет накопления ERC, имеется транскриптом, сходный с транскриптомом клеток материнской линии с таким же числом предшествующих дупликаций и, следовательно, со сходными функциональными изменениями [55].

Феномен постепенного старения клеток можно интерпретировать как действие случайных дегенеративных факторов, полностью выходящих за рамки гипотетической программы старения. Однако функциональные изменения MSC, связанные с предшествующим числом дупликаций, могут быть устранены путём их перепрограммирования в iPSC [130]. Эти iPSC независимо от возраста донора и источника клеток показывали омоложенный профиль [130]. Кроме того, для индуцированных MSC (iMSC) «метилирование ДНК, связанное с возрастом, было полностью стёрто, и iMSC вновь демонстрировали связанный со старением профиль метилирования ДНК во время культивирования *in vitro*» [95]. Из iPSC можно получить MSC с меньшим количеством эпигенетических изменений и улучшенными клеточными функциями [131].

Следует принять во внимание, что постепенное клеточное старение, по-видимому, является следствием репрессии определённых последовательностей (Т-последовательностей) в субтеломерном положении, которое критически подвержено этой репрессии. Поскольку постепенное клеточное старение снижает функциональную эффективность клетки (и организма, если клетка является частью многоклеточного организма), этот феномен не может быть оправдан с точки зрения индивидуального отбора, и необходимо выдвинуть предположение о его преимуществе, с точки зрения надиндивидуального отбора, в контексте более общей фенотипической программы.

ПРЕДЕЛЫ ДУПЛИКАЦИИ КЛЕТОК И АТРОПИЧЕСКИЙ СИНДРОМ

Соматические клетки в значительной степени подвержены клеточному обновлению. Фактически, клетки, которые постоянно умирают от некроза (вызванного травматическими событиями, инфекцией или воспалением), а также от апоптоза или других типов запрограммированной гибели ([6], §6.1.2 «Изменения клеточного оборота»), постоянно заменяются. Для некоторых типов клеток обновление происходит очень медленно («кость ... у человека обновляется в течение примерно десяти лет» [132]; если бы «умирающие миоциты не замещались постоянно, весь орган исчез бы примерно через 4,5 года» [133]), в то время как для других типов клеток характерно очень быстрое обновление (например, в «кишечном эпителии ... клетки заменяются каждые три–шесть дней» [132]).

У некоторых типов клеток (большинство типов нейронов, включая фоторецепторы сетчатки глаза) совсем нет обновления, и они считаются многолетними клетками, но их жизнеспособность зависит от других клеток, которые подвержены обновлению [134].

Можно полагать, что, в частности, для типов клеток с быстрым обновлением прогрессирующее укорочение теломеры является критическим элементом, который может быть основой старения. Однако некоторые исследования выявили более сложную ситуацию, которая вполне объяснима.

В обзоре Takubo et al. [135] исследовано уменьшение длины теломер у людей от новорожденных до долгожителей. Для некоторых тканей с типами клеток, демонстрирующими отсутствие или очень низкие темпы обновления

(например, мозговая ткань и сердечная мышца), практически не обнаруживается уменьшение длины теломер, измеренное в парах нуклеотидов, потерянных за один год.

В том же обзоре подчёркивается, что: (1) для некоторых типов клеток уменьшение длины теломер было критичным (например, для гепатоцитов скорость укорочения составляла 120 п.н./год, а средняя длина теломеры уменьшалась с $13,7 \pm 2,5$ т.п.н. у новорожденных до $8,7 \pm 1,4$ т.п.н. у долгожителей); и (2) для многих тканей темпы редукции в год имели промежуточные значения, в основном в пределах 20–60 п.н. в год.

Другое исследование показало, что в четырёх типах клеток или тканей с совершенно разной скоростью обновления клеток (скелетные мышцы, лейкоциты, кожа и подкожный жир) скорости укорочения теломер были одинаковыми [136]. Длина теломер оказалась одинаковой в разных тканях и органах человеческого плода [137]. Длина теломеры в SC кроветворных типов клеток с высокой скоростью обновления короче, чем у SC других типов клеток с низкой скоростью обновления [136].

Эти результаты позволили предположить, что в период роста стволовые клетки-предшественники каждого типа клеток подвергаются экспансии (т.е. пролиферации), которая пропорциональна последующим ритмам клеточного обновления (например, умеренная пролиферация SC скелетной мышцы с медленным обновлением и массивная экспансия SC гемопоэтических клеток с высоким уровнем обновления). Длина теломеры у каждого типа SC уменьшалась пропорционально степени их экспансии, в то время как на более поздних этапах жизни длина теломеры в разных типах клеток уменьшалась со сходной скоростью [136].

Более того, MSC пропорционально их экспансии, т.е. количеству дубликаций, демонстрировали последовательные эпигенетические изменения [94].

Эти факты, которые, безусловно, связаны с набором сложных механизмов регуляции, наряду с тем, что было описано для клеточного старения и постепенного клеточного старения, позволяют нам представить общую интерпретацию старения.

• Поскольку теломераза в SC неактивна, как и в эмбриональных клетках, всегда существует определённая вероятность того, что SC переходит в состояние клеточного старения, при котором происходит блокировка возможности дублирования [50]. Следовательно, с прогрессивным уменьшением числа стволовых клеток, способных к самовоспроизведению,

способности клеток к обновлению постепенно замедляются и снижаются.

• Помимо снижения способности клеток к обновлению из-за уменьшения количества SC, для различных типов клеток наблюдается прогрессивное увеличение числа клеток, (1) у некоторых из которых частичное укорочение теломер вызывает изменения процесса постепенного старения клеток; (2) для других активация клеточного старения вызывает изменения клеточных функций и аномальную секрецию (SASP), которые влияют на функционирование следующих клеток. По этим причинам для противодействия некоторым проявлениям старения и возрастным заболеваниями была предложена стратегия избирательного устранения клеток, изменённых клеточным старением, которая является предметом многочисленных исследований [52].

• Что касается многолетних клеток (большинство нейронов, включая фоторецепторы сетчатки и волокна хрусталика глаза), то они зависят от специализированных клеток, подверженных обновлению (определённые типы глиоцитов, включая пигментные клетки сетчатки и клетки эпителия хрусталика). Эти трофические клетки подвержены явлениям старения, характерным для других обновляющихся клеток, и их снижение определяет старение многолетних клеток [134, 138, 139].

Эти явления вызывают прогрессирующее изменение всех тканей и органов, которое было описано как «атрофический синдром» и характеризуется: а) снижением средней способности клеток к дублированию и замедлением обновления клеток; б) уменьшением количества клеток (атрофия); в) замещением отсутствующих специфических клеток неспецифическими клетками; г) гипертрофией остальных специфических клеток; д) изменёнными функциями клеток с укороченными теломерами или находящимися определённо в нециклическом состоянии; е) изменениями окружающей среды и клеток в зависимости от функциональности стареющих или отсутствующих клеток; ж) уязвимостью к раку из-за нестабильности, вызванной теломерой с нарушенной функцией» [140].

ФИКСИРОВАННЫЙ РАЗМЕР ТЕЛОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНОВОГО КАПЮШОНА

Теломерный гетерохроматиновый капюшон подробно обсуждается в статье Libertini et al. [41], в частности, подчёркивая

характеристики, требуемые субтеломерно-теломерной теорией для теломерного капюшона, его функции и его возможную структуру (белки RAP1, TIN2, TRF1, TRF2, TPP1 и POT1, которые образуют цепочку шелтериновых комплексов). Кроме того, рассматриваются вопросы, которые ещё нуждаются в пояснении.

Важно подчеркнуть существенный момент. Субтеломерно-теломерная теория требует, чтобы капюшон для каждой теломеры имел размер, определяемый в первой клетке организма в соответствии с длиной теломеры, и чтобы этот размер не менялся в последующих клеточных дупликациях даже при укорочении теломеры. Если эта теория верна, возможное предсказание состоит в том, что количество шелтериновых белков в клетке не должно быть связано с общей длиной теломер, а должно быть постоянным. Наоборот, если размеры капюшона уменьшаются, должно происходить уменьшение количества шелтериновых белков, связанное с укорочением теломер.

Однако было показано, что количество и стехиометрия белков, составляющих шелтериновые комплексы, «сходны в первичных и трансформированных клетках и ... не коррелируют с длиной теломеры» [141].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Срок жизни живых существ обычно определяется или находится под влиянием одной из различных известных форм запрограммированной смерти [7], впоследствии включённых в объединяющий необходимый неологизм и понятие феноптоза [1].

Исключением из этого правила являются организмы, которые делятся на две совершенно равные особи-потомки (например, бактерии), и виды, у которых возрастная смертность не увеличивается (виды с «незначительным старением») [7].

В этом общем контексте не следует удивляться тому, что старение, проявляющееся у человека и у многих других знакомых нам видов, является ещё одной формой феноптоза. Более того, существование видов с незначительным старением свидетельствует о том, что старение не является обязательной и общей судьбой для всех видов, даже если существуют родственные виды, для которых старение является обычным [7].

Принятие идеи о том, что старение может быть формой феноптоза, сразу наталкивается

на возражения о необходимости доказывать существование специфических, генетически детерминированных и модулируемых механизмов, вызывающих старение. Вышеизложенное показывает, что существование таких механизмов представляется достаточно задокументированным, чтобы сделать эту гипотезу весьма правдоподобной и заслуживающей дальнейшего изучения. Также для противоположного тезиса о том, что старение представляет собой результат кумулятивного прогрессирующего эффекта разнородных повреждений, должны быть обоснованы различные противоречия этого тезиса и некоторые особенности явлений, предлагаемых в рамках механизмов старения.

Однако в целом сопротивление представлению о старении как о адаптивном и запрограммированном явлении и упорная защита противоположной гипотезы, даже при недооценке аргументов и эмпирических данных, выявляющих различные противоречия, имеют более глубокие корни.

Современная биология прочно базируется на позициях дарвинизма, т.е. на эволюции путём естественного отбора и всего, что из него следует. Дарвинизм в своей первоначальной (но не исключительной!) форме, предложенной Чарльзом Дарвином, основан на индивидуальном отборе. Теоретические аргументы и эмпирические данные убедительно подводят нас к мысли, что дарвинизм должен быть расширен для рассмотрения также механизмов надиндивидуального отбора, который не исключал и сам Дарвин.

Если мы примем эту идею, преодолев чрезмерно узкую концепцию дарвинизма, многие вещи станут более понятными. В этом контексте концепция феноптоза, одной из форм которого является старение, кажется совершенно естественной и представляет собой ключевой сигнал инноваций в контексте дарвинизма.

Вклад авторов. Первый автор взял на себя инициативу в написании рукописи. Все авторы обсудили результаты, предоставили критические отзывы и внесли свой вклад в окончательный вариант рукописи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или любой другой сфере.

Соблюдение этических норм. Эта статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных, проведённых кем-либо из авторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Skulachev, V. P. (1997) Aging is a specific biological function rather than the result of a disorder in complex living systems: biochemical evidence in support of Weismann's hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **62**, 1191-1195.
2. Skulachev, V. P. (1999) Phenoptosis: programmed death of an organism, *Biochemistry (Moscow)*, **64**, 1418-1426.
3. Libertini, G. (1988) An adaptive theory of the increasing mortality with increasing chronological age in populations in the wild, *J. Theor. Biol.*, **132**, 145-162, doi: 10.1016/s0022-5193(88)80153-x.
4. Skulachev, V. P. (2002) Programmed death phenomena: from organelle to organism, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **959**, 214-237, doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02095.x.
5. Libertini, G. (2012) Classification of phenoptotic phenomena, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 707-715, doi: 10.1134/S0006297912070024.
6. Libertini, G., Corbi, G., Conti, V., Shubernetskaya, O., and Ferrara, N. (2021) Evolutionary Gerontology and Geriatrics – Why and How We Age, in *Advances in Studies of Aging and Health*, 2, Switzerland, Springer, doi: 10.1007/978-3-030-73774-0.
7. Finch, C. E. (1990) *Longevity, Senescence, and the Genome*, University of Chicago Press, Chicago.
8. Darwin, C. R. (1869) *Origin of Species*, 5th Edn., John Murray, London.
9. Darwin, C. R. (1871) *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*, John Murray, London.
10. Kirkwood, T. B. (2005) Understanding the odd science of aging, *Cell*, **120**, P437-P447, doi: 10.1016/j.cell.2005.01.027.
11. Hayflick, L. (2000) The future of ageing, *Nature*, **408**, 267-269, doi: 10.1038/35041709.
12. Vaupel, J. W., Baudisch, A., Dölling, M., Roach, D. A., and Gampe, J. (2004) The case for negative senescence, *Theor. Popul. Biol.*, **65**, 339-351, doi: 10.1016/j.tpb.2003.12.003.
13. Kirkwood, T. B., and Austad, S. N. (2000) Why do we age? *Nature*, **408**, 233-238, doi: 10.1038/35041682.
14. Ricklefs, R. E. (1998) Evolutionary theories of aging: confirmation of a fundamental prediction, with implications for the genetic basis and evolution of life span, *Am. Nat.*, **152**, 24-44, doi: 10.1086/286147.
15. Nussey, D. H., Froy, H., Lemaître, J. F., Gaillard, J. M., and Austad, S. N. (2013) Senescence in natural populations of animals: widespread evidence and its implications for bio-gerontology, *Ageing Res. Rev.*, **12**, 214-225, doi: 10.1016/j.arr.2012.07.004.
16. Williams, G. C. (1957) Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence, *Evolution*, **11**, 398-411, doi: 10.2307/2406060.
17. Kirkwood, T. B., and Melov, S. (2011) On the programmed/non-programmed nature of ageing with in the life history, *Curr. Biol.*, **21**, R701-R707, doi: 10.1016/j.cub.2011.07.020.
18. Hamilton, W. D. (1964) The genetical evolution of social behaviour. II, *J. Theor. Biol.*, **7**, 1-52, doi: 10.1016/0022-5193(64)90039-6.
19. Trivers, R. L. (1971) The evolution of reciprocal altruism, *Quart. Rev. Biol.*, **46**, 35-57, doi: 10.1086/406755.
20. Medawar, P. B. (1952) *An Unsolved Problem in Biology*, H. K. Lewis, London. Reprinted in *The Uniqueness of the Individual* (Medawar, P. B., 1957) Methuen, London.
21. Mueller, L. D. (1987) Evolution of accelerated senescence in laboratory populations of *Drosophila*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 1974-1977, doi: 10.1073/pnas.84.7.1974.
22. Libertini, G., Rengo, G., and Ferrara, N. (2017) Aging and aging theories, *J. Geront. Geriatr.*, **65**, 59-77.
23. Cagan, A., Baez-Ortega, A., Brzozowska, N., Abascal, F., Coorens, T. H. H., et al. (2022) Somatic mutation rates scale with lifespan across mammals, *Nature*, **604**, 517-524, doi: 10.1038/s41586-022-04618-z.
24. Gorelick, A. N., and Naxerova, K. (2022) Mutational clocks tick differently across species, *Nature*, **604**, 435-436, doi: 10.1038/d41586-022-00976-w.
25. Robinson, P. S., Coorens, T. H. H., Palles, C., Mitchell, E., Abascal, F., et al. (2021) Increased somatic mutation burdens in normal human cells due to defective DNA polymerases, *Nat. Genet.*, **53**, 1434-1442, doi: 10.1038/s41588-021-00930-y.
26. Rose, M. R. (1991) *Evolutionary Biology of Aging*, Oxford University Press, Oxford (UK).
27. Kirkwood, T. B. (1977) Evolution of ageing, *Nature*, **270**, 301-304, doi: 10.1038/270301a0.
28. Kirkwood, T. B., and Holliday, R. (1979) The evolution of ageing and longevity, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **205**, 531-546, doi: 10.1098/rspb.1979.0083.
29. Comfort, A. (1979) *The Biology of Senescence*, Livingstone, London.
30. Fülöp, T., Witkowski, J. M., Pawelec, G., Alan, C., and Larbi, A. (2014) On the immunological theory of aging, *Interdiscip. Top. Gerontol.*, **39**, 163-176, doi: 10.1159/000358904.
31. Franceschi, C., Garagnani, P., Morsiani, C., Conte, M., Santoro, A., et al. (2018) The continuum of aging and age-related diseases: common mechanisms but different rates, *Front. Med. (Lausanne)*, **5**, 61, doi: 10.3389/fmed.2018.00061.
32. Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors, *Cell*, **126**, 663-676, doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
33. Cowan, C. A., Atienza, J., Melton, D. A., and Eggan, K. (2005) Nuclear reprogramming of somatic cells after

- fusion with human embryonic stem cells, *Science*, **309**, 1369-1373, doi: 10.1126/science.1116447.
34. Fossel, M. B. (2004) *Cells, Aging and Human Disease*, Oxford University Press, New York.
 35. Travis, J. M. (2004) The evolution of programmed death in a spatially structured population, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **59**, 301-305, doi: 10.1093/gerona/59.4.b301.
 36. Martins, A. C. (2011) Change and aging senescence as an adaptation, *PLoS One*, **6**, e24328, doi: 10.1371/journal.pone.0024328.
 37. Mitteldorf, J., and Martins, A. C. (2014) Programmed life span in the context of evolvability, *Am. Nat.*, **184**, 289-302, doi: 10.1086/677387.
 38. Libertini, G. (2006) Evolutionary explanations of the “actuarial senescence in the wild” and of the “state of senility”, *ScientificWorldJournal*, **6**, 1086-1108, doi: 10.1100/tsw.2006.209.
 39. Libertini, G. (2008) Empirical evidence for various evolutionary hypotheses on species demonstrating increasing mortality with increasing chronological age in the wild, *ScientificWorldJournal*, **8**, 182-193, doi: 10.1100/tsw.2008.36.
 40. Libertini, G., Corbi, G., and Ferrara, N. (2020) Importance and meaning of TERRA sequences for aging mechanisms, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 1505-1517, doi: 10.1134/S0006297920120044.
 41. Libertini, G., Shubernetskaya, O., Corbi, G., and Ferrara, N. (2021) Is evidence supporting the subtelomere-telomere theory of aging? *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 1766-1781, doi: 10.1134/S0006297921120026.
 42. Hayflick, L., and Moorhead, P. S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621, doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
 43. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides, *Doklady Biochem.*, **201**, 394-397.
 44. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzyme synthesis of polynucleotides and biological significance of the problem, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
 45. Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts, *Cell*, **43** (2 Pt 1), 405-413, doi: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
 46. Gorbunova, V., Bozzella, M. J., and Seluanov, A. (2008) Rodents for comparative aging studies: from mice to beavers, *Age (Dordr.)*, **30**, 111-119, doi: 10.1007/s11357-008-9053-4.
 47. Slijepcevic, P., and Hande, M. P. (1999) Chinese hamster telomeres are comparable in size to mouse telomeres, *Cytogenet. Cell Genet.*, **85**, 196-199, doi: 10.1159/000015292.
 48. Kubota, C., Yamakuchi, H., Todoroki, J., Mizoshita, K., Tabara, N., et al. (2000) Six cloned calves produced from adult fibroblast cells after long-term culture, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 990-995, doi: 10.1073/pnas.97.3.990.
 49. Lanza, R. P., Cibelli, J. B., Faber, D., Sweeney, R. W., Henderson, B., et al. (2001) Cloned cattle can be healthy and normal, *Science*, **294**, 1893-1894, doi: 10.1126/science.1063440.
 50. Blackburn, E. H. (2000) Telomere states and cell fates, *Nature*, **408**, 53-56, doi: 10.1038/35040500.
 51. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Possible interventions to modify aging, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1413-1428, doi: 10.1134/S0006297916120038.
 52. Libertini, G., Ferrara, N., Rengo, G., and Corbi, G. (2018) Elimination of senescent cells: prospects according to the subtelomere-telomere theory, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1477-1488, doi: 10.1134/S0006297918120064.
 53. Gottschling, D. E., Aparicio, O. M., Billington, B. L., and Zakian, V. A. (1990) Position effect at *S. cerevisiae* telomeres: reversible repression of Pol II transcription, *Cell*, **63**, 751-762, doi: 10.1016/0092-8674(90)90141-z.
 54. Sinclair, D. A., and Guarente, L. (1997) Extrachromosomal rDNA circles – a cause of aging in yeast, *Cell*, **91**, 1033-1042, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80493-6.
 55. Lesur, I., and Campbell, J. L. (2004) The transcriptome of prematurely aging yeast cells is similar to that of telomerase-deficient cells, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 1297-1312, doi: 10.1091/mbc.e03-10-0742.
 56. Ben-Porath, I., and Weinberg, R. (2005) The signals and pathways activating cellular senescence, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **37**, 961-976, doi: 10.1016/j.biocel.2004.10.013.
 57. Campisi, J., and d'Adda di Fagagna, F. (2007) Cellular senescence: when bad things happen to good cells, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **8**, 729-740, doi: 10.1038/nrm2233.
 58. Coppé, J. -P., Patil, C. K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D. P., et al. (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor, *PLoS Biol.*, **6**, 2853-2868, doi: 10.1371/journal.pbio.0060301.
 59. Londoño-Vallejo, J. A., DerSarkissian, H., Cazes, L., and Thomas, G. (2001) Differences in telomere length between homologous chromosomes in humans, *Nucleic Acids Res.*, **29**, 3164-3171, doi: 10.1093/nar/29.15.3164.
 60. Hjelmborg, J. B., Dalgård, C., Möller, S., Steenstrup, T., Kimura, M., et al. (2015) The heritability of leucocyte telomere length dynamics, *J. Med. Genet.*, **52**, 297-302, doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102736.
 61. Brown, W. R., MacKinnon, P. J., Villasanté, A., Spurr, N., Buckle, V. J., et al. (1990) Structure and polymorphism of human telomere-associated DNA, *Cell*, **63**, 119-132, doi: 10.1016/0092-8674(90)90293-n.
 62. Nergadze, S. G., Farnung, B. O., Wischnewski, H., Khoraiuli, L., Vitelli, V., et al. (2009) CpG-island promoters drive transcription of human telomeres, *RNA*, **15**, 2186-2194, doi: 10.1261/rna.1748309.

63. Azzalin, C. M., Reichenbach, P., Khoraiuli, L., Giulotto, E., and Lingner, J. (2007) Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends, *Science*, **318**, 798-801, doi: 10.1126/science.1147182.
64. Schoeftner, S., and Blasco, M. A. (2008) Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II, *Nat. Cell Biol.*, **10**, 228-236, doi: 10.1038/ncb1685.
65. Feuerhahn, S., Iglesias, N., Panza, A., Porro, A., and Lingner, J. (2010) TERRA biogenesis, turnover and implications for function, *FEBS Lett.*, **584**, 3812-3818, doi: 10.1016/j.febslet.2010.07.032.
66. Porro, A., Feuerhahn, S., Delafontaine, J., Riethman, H., Rougemont, J., et al. (2014) Functional characterization of the TERRA transcriptome at damaged telomeres, *Nat. Commun.*, **5**, 5379, doi: 10.1038/ncomms6379.
67. Diman, A., Boros, J., Poulain, F., Rodriguez, J., Purnelle, M., et al. (2016) Nuclear respiratory factor 1 and endurance exercise promote human telomere transcription, *Sci. Adv.*, **2**, e1600031, doi: 10.1126/sciadv.1600031.
68. Diman, A., and Decottignies, A. (2018) Genomic origin and nuclear localization of TERRA telomeric repeat-containing RNA: from Darkness to Dawn, *FEBS J.*, **285**, 1389-1398, doi: 10.1111/febs.14363.
69. Azzalin, C. M., and Lingner, J. (2008) Telomeres: the silence is broken, *Cell Cycle*, **7**, 1161-1165, doi: 10.4161/cc.7.9.5836.
70. Chu, H. -P., Cifuentes-Rojas, C., Kesner, B., Aeby, E., Lee, H.-G., et al. (2017) TERRA RNA antagonizes ATRX and protects telomeres, *Cell*, **170**, 86-101, doi: 10.1016/j.cell.2017.06.017.
71. Chu, H. -P., Froberg, J. E., Kesner, B., Oh, H. J., Ji, F., et al. (2017) PAR-TERRA directs homologous sex chromosome pairing, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 620-631, doi: 10.1038/nsmb.3432.
72. Bettin, N., Oss Pegorar, C., and Cusanelli, E. (2019) The emerging roles of TERRA in telomere maintenance and genome stability, *Cells*, **8**, 246, doi: 10.3390/cells8030246.
73. Montero, J. J., Lopez de Silanes, I., Grana, O., and Blasco, M. A. (2016) Telomeric RNAs are essential to maintain telomeres, *Nat. Commun.*, **7**, 12534, doi: 10.1038/ncomms12534.
74. Illingworth, R., Kerr, A., Desousa, D., Jørgensen, H., Ellis, P., et al. (2008) A novel CpG island set identifies tissue-specific methylation at developmental gene loci, *PLoS Biol.*, **6**, e22, doi: 10.1371/journal.pbio.0060022.
75. Bernstein, B. E., Stamatoyannopoulos, J. A., Costello, J. F., Ren, B., Milosavljevic, A., et al. (2010) The NIH roadmap epigenomics mapping consortium. *Nat. Biotechnol.*, **28**, 1045-1048, doi: 10.1038/nbt1010-1045.
76. Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types, *Genome Biol.*, **14**, R115, doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115. Erratum in: Horvath, S. (2015) Erratum to: DNA methylation age of human tissues and cell types, *Genome Biol.*, **16**, 96, doi: 10.1186/s13059-015-0649-6.
77. Mammalian Methylation Consortium (2021) Universal DNA methylation age across mammalian tissues, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2021.01.18.426733.
78. Rakyan, V. K., Down, T. A., Maslau, S., Andrew, T., Yang, T. P., et al. (2010) Human aging-associated DNA hypermethylation occurs preferentially at bivalent chromatin domains, *Genome Res.*, **20**, 434-439, doi: 10.1101/gr.103101.109.
79. Teschendorff, A. E., Menon, U., Gentry-Maharaj, A., Ramus, S. J., Weisenberger, D. J., et al. (2010) Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer, *Genome Res.*, **20**, 440-446, doi: 10.1101/gr.103606.109.
80. Horvath, S., Zhang, Y., Langfelder, P., Kahn, R., Boks, M., et al. (2012) Aging effects on DNA methylation modules in human brain and blood tissue, *Genome Biol.*, **13**, R97, doi: 10.1186/gb-2012-13-10-r97.
81. Bell, J. T., Tsai, P. C., Yang, T. P., Pidsley, R., Nisbet, J., et al. (2012) Epigenome-wide scans identify differentially methylated regions for age and age-related phenotypes in a healthy ageing population, *PLoS Genet.*, **8**, e1002629, doi: 10.1371/journal.gen.1002629.
82. Bird, A. (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory, *Genes Dev.*, **16**, 6-21, doi: 10.1101/gad.947102.
83. Stein, R., Razin, A., and Cedar, H. (1982) *In vitro* methylation of the hamster adenine phosphoribosyltransferase gene inhibits its expression in mouse L cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3418-3422, doi: 10.1073/pnas.79.11.3418.
84. Hansen, R. S., and Gartler, S. M. (1990) 5-Azacytidine-induced reactivation of the human X chromosome-linked PGK1 gene is associated with a large region of cytosine demethylation in the 5' CpG island, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4174-4178, doi: 10.1073/pnas.87.11.4174.
85. Bollati, V., Schwartz, J., Wright, R., Litonjua, A., Tarantini, L., et al. (2009) Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects, *Mech. Ageing Dev.*, **130**, 234-239, doi: 10.1016/j.mad.2008.12.003.
86. Christensen, B. C., Houseman, E. A., Marsit, C. J., Zheng, S., Wrensch, M. R., et al. (2009) Aging and environmental exposures alter tissue specific DNA methylation dependent upon CpG island context, *PLoS Genet.*, **5**, e1000602, doi: 10.1371/journal.pgen.1000602.
87. Pal, S., and Tyler, J. K. (2016) Epigenetics and aging, *Sci. Adv.*, **2**, e1600584, doi: 10.1126/sciadv.1600584.
88. Greer, E. L., and Shi, Y. (2012) Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance, *Nat. Rev. Genet.*, **13**, 343-357, doi: 10.1038/nrg31730.

89. Booth, L. N., and Brunet, A. (2016) The aging epigenome, *Mol. Cell*, **62**, 728-744, doi: 10.1016/j.molcel.2016.05.013.
90. Benetti, R., García-Cao, M., and Blasco, M. A. (2007) Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres, *Nat. Genet.*, **39**, 243-250, doi: 10.1038/ng1952.
91. Blasco, M. A. (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres, *Nat. Rev. Genet.*, **8**, 299-309, doi: 10.1038/nrg2047.
92. Maeda, T., Guan, J. Z., Higuchi, Y., Oyama, J., and Makino, N. (2009) Aging-related alterations of subtelomeric methylation in sarcoidosis patients, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **64**, 752-760, doi: 10.1093/gerona/glp049.
93. Buxton, J. L., Suderman, M., Pappas, J. J., Borghol, N., McArdle, W., et al. (2014) Human leukocyte telomere length is associated with DNA methylation levels in multiple subtelomeric and imprinted loci, *Sci. Rep.*, **4**, 4954, doi: 10.1038/srep04954.
94. Schellenberg, A., Lin, Q., Schüler, H., Koch, C. M., Jousen, S., et al. (2011) Replicative senescence of mesenchymal stem cells causes DNA-methylation changes which correlate with repressive histone marks, *Aging (Albany NY)*, **3**, 873-888, doi: 10.18632/aging.100391.
95. Zhou, X., Hong, Y., Zhang, H., and Li, X. (2020) Mesenchymal stem cell senescence and rejuvenation: current status and challenges, *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 364, doi: 10.3389/fcell.2020.00364.
96. Ohno, S. (1972) So much "junk" DNA in our genome, in *Evolution of Genetic Systems* (Smith, H. H., ed.) Gordon and Breach, New York, pp. 366-370.
97. Moraes, F., and Góes, A. (2016) A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge, *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, **44**, 215-223, doi: 10.1002/bmb.20952.
98. D'Adda di Fagagna, F., Reaper, P. M., Clay-Farrace, L., Fiegler, H., Carr, P., et al. (2003) A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence, *Nature*, **426**, 194-198, doi: 10.1038/nature02118.
99. Cristofalo, V. J., and Pignolo, R. J. (1993) Replicative senescence of human fibroblast-like cells in culture, *Physiol. Rev.*, **73**, 617-638, doi: 10.1152/physrev.1993.73.3.617.
100. Kwon, S. M., Hong, S. M., Lee, Y. K., Min, S., and Yoon, G. (2019) Metabolic features and regulation in cell senescence, *BMB Rep.*, **52**, 5-12, doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.1.291.
101. Shelton, D. N., Chang, E., Whittier, P. S., Choi, D., and Funk, W. D. (1999) Microarray analysis of replicative senescence, *Curr. Biol.*, **9**, 939-945, doi: 10.1016/s0960-9822(99)80420-5.
102. Kirkland, J. L., and Tchkonja, T. (2017) Cellular senescence: a translational perspective, *EBioMedicine*, **21**, 21-28, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013.
103. Van Deursen, J. M. (2014) The role of senescent cells in ageing, *Nature*, **509**, 439-446, doi: 10.1038/nature13193.
104. Rodier, F., Coppé, J. P., Patil, C. K., Hoeijmakers, W. A., Muñoz, D. P., et al. (2009) Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion, *Nat. Cell. Biol.*, **11**, 973-979, doi: 10.1038/ncb1909.
105. Wang, E. (1995) Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved, *Cancer Res.*, **55**, 2284-2292.
106. Krishnamurthy, J., Torrice, C., Ramsey, M. R., Kovalev, G. I., Al-Regaiey, K., et al. (2004) Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging, *J. Clin. Invest.*, **114**, 1299-1307, doi: 10.1172/JCI22475.
107. Baker, D. J., Childs, B. G., Durik, M., Wijers, M. E., Sieben, C. J., et al. (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan, *Nature*, **530**, 184-189, doi: 10.1038/nature16932.
108. Baker, D. J., Jeganathan, K. B., Cameron, J. D., Thompson, M., Juneja, S., et al. (2004) BubR1 insufficiency causes early onset of aging-associated phenotypes and infertility in mice, *Nat. Genet.*, **36**, 744-749, doi: 10.1038/ng1382.
109. Baker, D. J., Perez-Terzic, C., Jin, F., Pitel, K. S., Niederländer, N. J., et al. (2008) Opposing roles for p16Ink4a and p19Arf in senescence and ageing caused by BubR1 insufficiency, *Nat. Cell. Biol.*, **10**, 825-836, doi: 10.1038/ncb1744.
110. Chang, J., Wang, Y., Shao, L., Laberge, R.-M., Demaria, M., et al. (2016) Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice, *Nat. Med.*, **22**, 78-83, doi: 10.1038/nm.4010.
111. Fuhrmann-Stroissnigg, H., Ling, Y. Y., Zhao, J., McGowan, S. J., Zhu, Y., et al. (2017) Identification of HSP90 inhibitors as a novel class of senolytics, *Nat. Commun.*, **8**, 422, doi: 10.1038/s41467-017-00314-z.
112. Campisi, J. (2003) Cancer and ageing: rival demons? *Nat. Rev. Cancer*, **3**, 339-349, doi: 10.1038/nrc1073.
113. Wright, W. E., and Shay, J. W. (2005) Telomere biology in aging and cancer, *J. Am. Geriatr. Soc.*, **53**, S292-S294, doi: 10.1111/j.1532-5415.2005.53492.x.
114. Campisi, J. (2000) Cancer, aging and cellular senescence, *In vivo*, **14**, 183-188.
115. Wu, X., Amos, C. I., Zhu, Y., Zhao, H., Grossman, B. H., et al. (2003) Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor, *J. Natl. Cancer Inst.*, **95**, 1211-1218, doi: 10.1093/jnci/djg011.
116. Ma, H., Zhou, Z., Wei, S., Liu, Z., Pooley, K. A., et al. (2011) Shortened telomere length is associated with increased risk of cancer: a meta-analysis, *PLoS One*, **6**, e20466, doi: 10.1371/journal.pone.0020466.
117. Bernardes de Jesus, B., Vera, E., Schneeberger, K., Tejera, A. M., Ayuso, E., et al. (2012) Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer, *EMBO Mol. Med.*, **4**, 691-704, doi: 10.1002/emmm.201200245.

118. Laun, P., Bruschi, C. V., Dickinson, J. R., Rinnerthaler, M., Heeren, G., et al. (2007) Yeast mother cell-specific ageing, genetic (in)stability, and the somatic mutation theory of ageing, *Nucleic Acids Res.*, **35**, 7514-7526, doi: 10.1093/nar/gkm919.
119. Libertini, G. (2013) Evidence for aging theories from the study of a hunter-gatherer people (Ache of Paraguay), *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1023-1032, doi: 10.1134/S0006297913090083.
120. Mitteldorf, J. (2013) Telomere biology: cancer firewall or aging clock? *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1054-1060, doi: 10.1134/S0006297913090125.
121. Libertini, G. (2015) Non-programmed versus programmed aging paradigm. *Curr Aging Sci*, **8**, 56-68, doi: 10.2174/1874609808666150422111623.
122. Wagner, W., Horn, P., Castoldi, M., Diehlmann, A., Bork, S., et al. (2008) Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process, *PLoS One*, **3**, e2213, doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
123. Koch, C. M. (2012) Monitoring of cellular senescence by DNA-methylation at specific CpG sites, *Aging Cell*, **11**, 366-369, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00784.x.
124. Schellenberg, A. (2014) Proof of principle: quality control of therapeutic cell preparations using senescence-associated DNA-methylation changes, *BMC Res. Notes*, **7**, 254, doi: 10.1186/1756-0500-7-254.
125. Fernandez-Rebollo, E. (2020) Senescence-associated metabolomic phenotype in primary and iPSC-derived mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Rep.*, **14**, 201-209, doi: 10.1016/j.stemcr.2019.12.012.
126. Robin, J. D., Ludlow, A. T., Batten, K., Magdinier, F., Stadler, G., et al. (2014) Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances, *Genes Dev.*, **28**, 2464-2476, doi: 10.1101/gad.251041.114.
127. Laun, P., Pichova, A., Madeo, F., Fuchs, J., Ellinger, A., et al. (2001) Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis, *Mol. Microbiol.*, **39**, 1166-1173, doi: 10.1111/j.1365-2958.2001.02317.x.
128. Herker, E., Jungwirth, H., Lehmann, K. A., Maldener, C., Fröhlich, K. U., et al. (2004) Chronological aging leads to apoptosis in yeast, *J. Cell Biol.*, **164**, 501-507, doi: 10.1083/jcb.200310014.
129. D'Mello, N. P., and Jazwinski, S. M. (1991) Telomere length constancy during aging of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Bacteriol.*, **173**, 6709-6713, doi: 10.1128/jb.173.21.6709-6713.1991.
130. Spitzhorn, L. S. (2019) Human iPSC-derived MSCs (iMSCs) from aged individuals acquire a rejuvenation signature, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**, 100, doi: 10.1186/s13287-019-1209-x.
131. Hynes, K. (2013) Mesenchymal stem cells from iPSC cells facilitate periodontal regeneration, *J. Dent. Res.*, **92**, 833-839, doi: 10.1177/0022034513498258.
132. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., et al. (2014) *Essential Cell Biology*, 4th Edn., Garland Science, New York.
133. Anversa, P., Kajstura, J., Leri, A., and Bolli, R. (2006) Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology, *Circulation*, **113**, 1451-1463, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.595181.
134. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Aging of perennial cells and organ parts according to the programmed aging paradigm, *Age (Dordr.)*, **38**, 35, doi: 10.1007/s11357-016-9895-0.
135. Takubo, K., Aida, J., Izumiyama-Shimomura, N., Ishikawa, N., Sawabe, M., et al. (2010) Changes of telomere length with aging, *Geriatr. Gerontol. Int.*, **10**, S197-S206, doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00605.x.
136. Daniali, L., Benetos, A., Susser, E., Kark, J. D., Labat, C., et al. (2013) Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults, *Nat. Commun.*, **4**, 1597, doi: 10.1038/ncomms2602.
137. Okuda, K., Bardeguet, A., Gardner, J. P., Rodriguez, P., Ganesh, V., et al. (2002) Telomere length in the newborn, *Pediatr. Res.*, **52**, 377-381, doi: 10.1203/00006450-200209000-00012.
138. Libertini, G. (2009) The role of telomere-telomerase system in age-related fitness decline, a tameable process, in *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening* (Mancini, L., ed.) Nova Science Publ., New York, pp. 77-132.
139. Flanary, B. (2009) Telomeres: Function, Shortening, and Lengthening, in *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening* (Mancini, L., ed.) Nova Science Publ. Inc., New York, pp. 379-386.
140. Libertini, G. (2014) Programmed aging paradigm: how we get old, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1004-1016, doi: 10.1134/S0006297914100034.
141. Takai, K. K., Hooper, S., Blackwood, S., Gandhi, R., and de Lange, T. (2010) *In vivo* stoichiometry of shelterin components, *J. Biol. Chem.*, **285**, 1457-1467, doi: 10.1074/jbc.M109.038026.

IS HUMAN AGING A FORM OF PHENOPTOSIS?

Review

G. Libertini^{1,2*}, G. Corbi^{3,4}, O. Shubernetskaya⁵, and N. Ferrara^{2,6}

¹ *Italian Society for Evolutionary Biology (SIBE), 14100 Asti, Italy; Email: giacinto.libertini@yahoo.com*

² *Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy*

³ *Department of Medicine and Health Sciences, University of Molise, 86100 Campobasso, Italy*

⁴ *Italian Society of Gerontology and Geriatrics (SIGG), 50129 Firenze, Italy*

⁵ *Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 117997 Moscow, Russia*

⁶ *Istituti Clinici Scientifici Maugeri SPA – Società Benefit, IRCCS, 82037 Telesse Terme (BN), Italy*

A much debated question is whether aging is the cumulative consequence of degenerative factors insufficiently opposed by natural selection, or, on the contrary, an ordered process, genetically determined and regulated, modeled by natural selection, and for which the definition of phenoptotic phenomenon would be entirely appropriate. In this review, theoretical arguments and empirical data about the two hypotheses are exposed, with more evidence in support of the thesis of aging as a form of phenoptosis. However, as the thesis of aging as an adaptive and programmed phenomenon necessarily requires the existence of specific mechanisms that determine to age, such as the subtelomere-telomere theory proposed for this purpose, the evidence supporting the mechanisms described by this theory is reported. In particular, it is highlighted that the recent interpretation of the role of TERRA sequences in the context of subtelomere-telomere theory is a fundamental point in supporting the hypothesized mechanisms. Furthermore, some characteristics of the mechanisms proposed by the theory, such as epigenetic modifications in aging, gradual cell senescence, cell senescence, limits in cell duplications, and fixed size of the telomeric heterochromatin hood, are exposed in their compatibility with both the thesis of aging as phenoptotic phenomenon and the opposite thesis. In short, aging as a form of phenoptosis appears a scientifically sound hypothesis while the opposite thesis should clarify the meaning of various phenomena that appear to invalidate it.

Keywords: phenoptosis, aging, subtelomere, telomere, subtelomere-telomere theory, gradual cell senescence, cell senescence, epigenetic changes